



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**

**ANNÉE 2012**

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

***Evaluation histopronostique de la régression tumorale, de la prolifération  
et de l'infiltrat lymphocytaire intra-épithélial dans les carcinomes séreux  
de haut grade ovariens après chimiothérapie néoadjuvante.***

**Présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 2012**

**Par Dorothée DAUSSAY**

**Jury**

<b>Présidente:</b>	<b>Madame le Professeur COPIN</b>
<b>Assesseurs:</b>	<b>Monsieur le Professeur HEBBAR</b>
	<b>Monsieur le Professeur VINATIER</b>
<b>Directeur de thèse:</b>	<b>Monsieur le Docteur KERDRAON</b>

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>2</b>
<b>A. Épidémiologie, présentation clinique et diagnostic.....</b>	<b>2</b>
<b>B. Stadification des tumeurs ovariennes: facteur pronostique majeur.....</b>	<b>5</b>
<b>C. Le type histologique: autre facteur pronostique majeur .....</b>	<b>7</b>
1. Carcinome séreux .....	7
2. Carcinome endométriøide .....	11
3. Carcinome mucineux.....	11
4. Carcinome à cellules claires.....	12
<b>D. Les différents types histologiques de carcinomes ovariens témoignent de cancers distincts .....</b>	<b>14</b>
1. Voies de cancérogenèse.....	14
2. Différentes cellules d'origine .....	16
a) Origine des tumeurs séreuses.....	18
b) Origine des tumeurs endométriøides et à cellules claires .....	22
c) Origine des tumeurs mucineuses et de Brenner.....	23
<b>E. Traitement du cancer de l'ovaire .....</b>	<b>24</b>
<b>F. Évaluation de la réponse à la chimiothérapie .....</b>	<b>26</b>
<b>G. Évaluation de l'intérêt pronostique de la réaction inflammatoire dans les cancers ovariens .....</b>	<b>32</b>
<b>BUTS DE L'ÉTUDE .....</b>	<b>34</b>

<b>MATÉRIELS ET MÉTHODES</b> .....	<b>36</b>
<b>A. Sélection des cas</b> .....	<b>36</b>
<b>B. Étude clinique</b> .....	<b>37</b>
1. Étude histologique.....	37
a) Technique.....	37
b) Critères de régression tumorale histologique.....	37
2. Étude immunohistochimique.....	42
a) Technique.....	42
b) Interprétation des immunomarquages.....	43
<b>C. Analyse statistique</b> .....	<b>47</b>
<b>RÉSULTATS</b> .....	<b>48</b>
<b>A. Paramètres cliniques</b> .....	<b>48</b>
<b>B. Évaluation pronostique des caractéristiques cliniques</b> .....	<b>50</b>
<b>C. Évaluation pronostique de la régression tumorale après chimiothérapie</b> .....	<b>51</b>
<b>D. Évaluation pronostique de la prolifération après chimiothérapie</b> .....	<b>53</b>
<b>E. Évaluation pronostique de l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral après chimiothérapie</b> .....	<b>55</b>
<b>F. Évaluation pronostique de l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral avant chimiothérapie sur biopsie</b> .....	<b>62</b>
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>64</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>74</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>75</b>

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

BRCA1/2: breast cancer 1/2

CCNE1: cycline E1

CTNNB1: gène encodant Béta-caténine

ERBB2: Her2/neu

FIGO: Fédération Internationale de Gynécologie Obstétrique

FoxP3: Forkhead box protein 3

HOX: gènes homéotiques Homeobox

INCA: Institut National du Cancer

KRAS: V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

LIE: lymphocytes intra-épithéliaux

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PIK3CA: Phosphoinositide-3-Kinase Catalytic, alpha Polypeptide

PTEN: phosphatase and Tensin Homolog

STIC: serous tubal intra-épithélial carcinoma

T reg: lymphocytes T régulateurs

Wnt: Wingless Integration site

# INTRODUCTION

## A. ÉPIDÉMIOLOGIE, PRÉSENTATION CLINIQUE ET DIAGNOSTIC

---

Le cancer de l'ovaire se situe au 7<sup>ème</sup> rang des cancers féminins avec 4375 nouveaux cas diagnostiqués en France en 2005 (statistiques selon l'INCA). Avec 3180 décès par an, il se situe au 5<sup>ème</sup> rang des décès par cancer chez la femme.

Dans la plupart des cas, il est diagnostiqué à un stade avancé et il est associé de ce fait à un mauvais pronostic avec une survie à 5 ans de 30% en moyenne.

L'incidence des cancers de l'ovaire est plus élevée en Europe et aux USA, plus faible dans les pays en voie de développement où la parité est plus haute [1]. L'âge moyen lors du diagnostic est de 60 ans.

Le facteur de risque le plus important est l'existence d'une histoire familiale forte de carcinome ovarien ou mammaire, même si une prédisposition génétique (notamment une mutation BRCA1 ou BRCA2) n'est retrouvée que chez 10 à 15% des patientes. Pour une femme ayant une mutation du gène BRCA1, le risque de développer un cancer de l'ovaire est estimé de 39 à 46%; avec une mutation de BRCA2, il est de 12 à 20% [1]. Une annexectomie bilatérale prophylactique est ainsi recommandée afin de réduire le risque de carcinome chez les patientes âgées de plus de 40ans présentant un haut risque de carcinome ovarien [2, 3].

L'ovulation jouant un rôle dans la carcinogenèse ovarienne, la nulliparité, la ménarche précoce et la ménopause tardive sont des facteurs de risque de cancer de l'ovaire. La grossesse, l'allaitement et la ligature de trompes sont eux des facteurs

protecteurs [1]. La généralisation de l'emploi de la contraception orale devrait s'accompagner d'une baisse de l'incidence pour les générations les plus récentes.

Les symptômes révélant le cancer de l'ovaire sont peu spécifiques et souvent absents aux stades précoces. Il s'agit en général de douleurs pelviennes parfois liées à une torsion ovarienne, d'une altération de l'état général avec anorexie, amaigrissement et asthénie, ou de symptômes en rapport avec un épanchement des séreuses comme l'augmentation du périmètre abdominal liée à la présence d'une ascite ou la dyspnée en rapport avec un épanchement pleural [1]. Les carcinomes de l'ovaire sont donc le plus souvent découverts à un stade évolué.

A ce jour, il n'existe pas d'outil fiable permettant la mise en place d'un dispositif de prévention et de diagnostic précoce. Le dosage sérique du CA125 manque de sensibilité et de spécificité. En effet, ce marqueur n'est pas toujours élevé en cas de carcinome ovarien et il s'élève dans d'autres pathologies, bénignes ou malignes [4]. Il existe une meilleure spécificité en associant le dosage du CA125 à la réalisation d'une échographie pelvienne par voie vaginale [5]. Le CA125 est plus utile au suivi post-thérapeutique des patientes afin de dépister la récurrence. Celui-ci s'élève 2 à 6 mois avant les symptômes de récurrence. Cependant, il n'a pas été montré de bénéfice sur la survie en cas de traitement précoce de la récurrence devant une augmentation isolée du CA125 [6].

L'échographie pelvienne transvaginale est l'examen réalisé en première intention devant une lésion ovarienne, mais ne peut pas être utilisée en prévention et en dépistage. Elle est plus sensible que le scanner et permet de mettre en évidence des critères évoquant la malignité [1]: masse ovarienne tissulaire vascularisée, de

grande taille, kyste ovarien complexe présentant un double contingent solide et kystique, présence de cloisons épaisses, de projections papillaires solides, d'une ascite. Une lésion kystique d'allure bénigne présente une paroi fine et un contenu liquidien.

Les autres examens d'imagerie ne sont utilisés que pour le bilan d'extension comprenant en général une IRM pelvienne et un scanner thoraco-abdomino-pelvien.

La preuve histologique du caractère carcinomateux n'est obtenue que par le biais d'une exploration chirurgicale avec stadification et chirurgie de réduction optimale si possible. La biopsie percutanée pour étude histologique n'est pas recommandée du fait du risque d'essaimage carcinomateux suite à l'effraction tumorale [1].

## B. STADIFICATION DES TUMEURS OVARIENNES: FACTEUR PRONOSTIQUE MAJEUR

---

L'évolution métastatique des carcinomes peut se faire selon trois voies:

- Par voie péritonéale, après franchissement de la capsule ovarienne, par le biais d'un liquide péritonéal drainant les cellules carcinomateuses. Ainsi, du fait de la pesanteur, les structures péritonéales basses sont d'abord infiltrées comme le cul de sac de Douglas et les gouttières pariéto-coliques, puis l'épiploon et les coupoles diaphragmatiques.
- Par voie lymphatique avec extension aux aires ganglionnaires régionales: lombo-aortique et pelviennes.
- Par voie hématogène, à l'origine des métastases à distance, notamment hépatiques et pulmonaires.

La stadification du carcinome ovarien est réalisée selon les critères de la Fédération internationale de Gynécologie-Obstétrique (FIGO) [7]:

- Stade I: Tumeur limitée aux ovaires:

IA: tumeur limitée à un ovaire, capsule intacte, pas de tumeur à la surface de l'ovaire, pas de cellules tumorales dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

IB: tumeur limitée aux deux ovaires, capsule intacte, pas de tumeur à la surface de l'ovaire, pas de cellules tumorales dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

IC: tumeur limitée à un ou les deux ovaires avec rupture capsulaire ou tumeur à la surface ovarienne, cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

- Stade II: Tumeur envahissant un ou deux ovaires avec extension au sein du pelvis:

IIA: extension ou implants sur l'utérus ou la trompe ou les deux, pas de cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

IIB: extension aux autres tissus pelviens, pas de cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

IIC: extension pelvienne avec présence de cellules tumorales dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal.

- Stade III: Tumeur envahissant un ou les deux ovaires avec métastases péritonéales en dehors du pelvis ou rétro-péritonéales ou métastases ganglionnaires inguinales.

IIIA: métastases péritonéales microscopiques au delà du pelvis.

IIIB: métastases péritonéales macroscopiques au delà du pelvis mesurant moins de 2cm.

IIIC: métastases péritonéales macroscopiques au delà du pelvis mesurant plus de 2cm ou métastases ganglionnaires régionales ou les deux.

- Stade IV: Métastases à distance (métastases péritonéales exclues): parenchyme hépatique ou autres organes ou épanchement pleural malin.

Cependant à stade égal, d'autres critères pronostiques sont reconnus [1]:

- En cas de carcinome à un stade précoce (stades I, II), les critères pronostiques reconnus sont l'âge, le type histologique et le grade.
- A un stade avancé (stades III, IV), d'autres critères pronostiques sont capitaux: le résidu tumoral post-chirurgical (supérieur ou inférieur à 1cm) et la présence d'un envahissement ganglionnaire.

## **C. LE TYPE HISTOLOGIQUE: AUTRE FACTEUR PRONOSTIQUE MAJEUR**

---

Environ 90% des tumeurs malignes de l'ovaire sont des cancers épithéliaux (carcinomes ovariens) [8].

La classification histologique des tumeurs épithéliales ovariennes est basée sur des critères morphologiques. Les 4 grands types histologiques (séreux, endométrioïde, à cellules claires et mucineux) montrent une grande ressemblance avec les cellules normales des différents composants de l'appareil génital féminin. Les cellules tumorales des carcinomes séreux, endométrioïde et mucineux ressemblent aux cellules épithéliales normales bordant la trompe, l'endomètre et l'endocol respectivement.

Les différents types histologiques sont caractérisés par des présentations cliniques et des pronostics variés. Ainsi, les carcinomes mucineux et endométrioïdes sont associés à un pronostic plus favorable que celui des carcinomes séreux. Les carcinomes indifférenciés ont le moins bon pronostic [1].

### **1. Carcinome séreux**

Ces tumeurs, dans près de 70% des cas bilatérales, représentent 58 % des carcinomes ovariens [9]. Selon l'OMS 2003, les carcinomes séreux sont des tumeurs séreuses ovariennes infiltrantes (sur plus de 10mm<sup>2</sup>) dont les cellules ressemblent à l'épithélium tubaire dans les formes les mieux différenciées et sont anaplasiques dans les formes indifférenciées.

Ils sont caractérisés par une architecture glandulaire fissuraire, papillaire complexe

(papilles ramifiées avec division hiérarchique) ou solide [Figure 1]. Il existe fréquemment des projections cellulaires sous la forme de micropapilles.

Le pronostic des carcinomes ovariens est en partie lié à leur grade, celui-ci faisant l'objet de débats puisque plusieurs grades sont disponibles, adaptés ou non au type histologique.

Historiquement, les carcinomes ovariens sont classés selon un grade architectural variant de 1 à 3, correspondant à leur degré de différenciation selon la FIGO. Celle-ci établit 3 grades basés sur l'architecture tumorale définie par le rapport des zones bien différenciées glandulaires et/ou papillaires aux zones peu différenciées solides. Les grades 1, 2 et 3 correspondent respectivement à < 5%, 5 à 50% et >50% de contingent solide dans la tumeur [10].

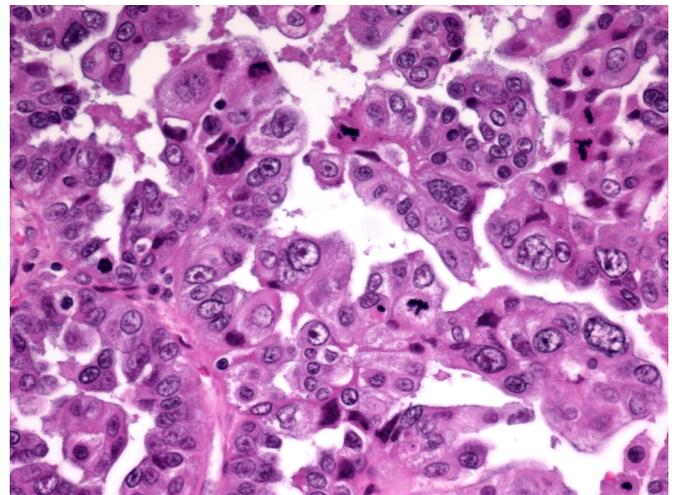
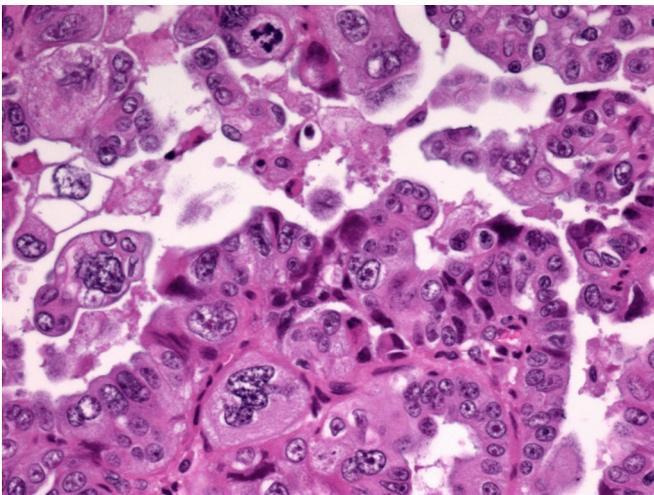
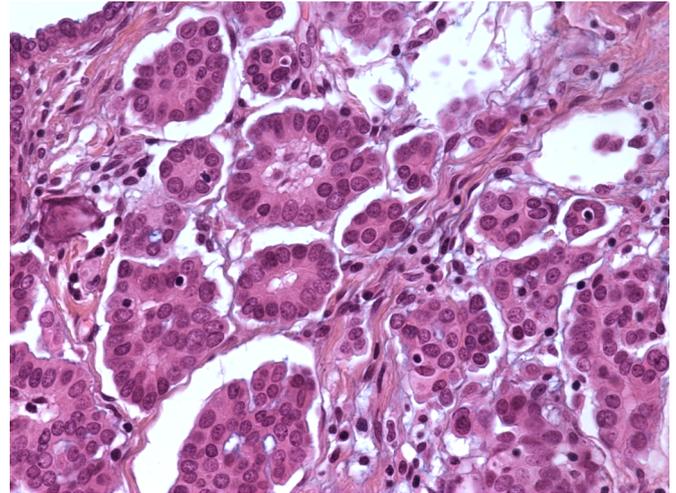
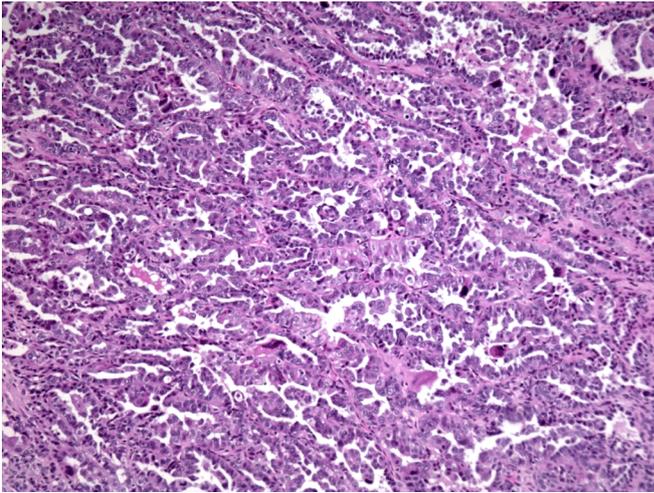
Ce grade FIGO n'étant pas toujours parfaitement corrélé à la survie, un autre grade a été proposé par Shimizu et Silverberg [11] et utilisé notamment dans le cas des carcinomes séreux. Celui-ci est inspiré du grade d'Elston et Ellis utilisé dans les carcinomes mammaires évaluant l'architecture, la cytologie et la prolifération de la lésion. Il est basé sur un score variant de 1 à 3 où interviennent l'architecture tumorale (glandulaire, papillaire ou solide), les atypies cytologiques (légères, modérées ou marquées) et l'activité mitotique (0-9/10-24/≥25 mitoses pour 10 champs de 0,345mm<sup>2</sup>). Le score total répartit les carcinomes selon 3 grades corrélés à la survie: grade 1 (scores de 3 à 5), grade 2 (scores 6 et 7), grade 3 (scores 8 et 9),

Plus récemment, Malpica *et al* ont déterminé un nouveau grade, spécifique au type histologique séreux [12]. Les carcinomes séreux sont alors classés selon deux

grades corrélés à un pronostic différent: le carcinome séreux de bas grade présentant une évolution plus indolente et le carcinome séreux de haut grade présentant un pronostic plus péjoratif.

Selon Malpica *et al*, le grade est uniquement basé sur les caractéristiques nucléaires comme suit:

- Carcinome séreux de bas grade: anisocaryose  $< 1/3$  (variation de taille des noyaux), chromatine uniforme, parfois présence de nucléoles non proéminents. En corollaire  $\leq 12$  mitoses pour 10 champs à fort grossissement [Figure 1].
- Carcinome séreux de haut grade: anisocaryose  $\geq 1/3$ , chromatine irrégulière avec macronucléole, présence de cellules tumorales multinucléées. En corollaire,  $> 12$  mitoses pour 10 champs à fort grossissement [Figure 1].



A	B
C	D

**Figure 1 Aspect histologique du carcinome séreux:**

(A) Carcinome séreux de haut grade (x100): architecture papillaire ou glandulaire fissuraire.  
 (B) Carcinome séreux de bas grade (x400): anisocaryose faible à modérée, chromatine homogène sans nucléole visible. (C) Carcinome séreux de haut grade (x400): pléomorphisme important, cellules multinucléées. (D) Carcinome séreux de haut grade (x400): atypies cytonucléaires marquées, chromatine hétérogène avec macronucléole, activité mitotique intense.

## **2. Carcinome endométrioïde**

Ces carcinomes représentent 7.5% des carcinomes ovariens [9]. Selon l'OMS, il s'agit de tumeurs ovariennes ressemblant aux tumeurs endométrioïdes du corps utérin. Il est ainsi important d'exclure une métastase ovarienne de carcinome endométrioïde endométrial.

Ces carcinomes sont caractérisés par la présence de glandes, papilles ou zones solides infiltrant selon un mode expansif ou infiltrant sur plus de 5mm [Figure 2]. Les glandes ou papilles sont revêtues d'un épithélium basophile cylindrique stratifié. La présence de zones de différenciation malpighienne ou d'un contexte d'endométriiose peuvent aider au diagnostic.

Le grade employé pour ce type histologique est le même que celui utilisé pour les carcinomes endométrioïdes de l'endomètre (Classification de la FIGO).

## **3. Carcinome mucineux**

Ces carcinomes représentent 3% des carcinomes ovariens [9]. Selon l'OMS, le carcinome mucineux est une tumeur mucineuse infiltrante (sur plus de 10mm<sup>2</sup>) dont les cellules comportent de la mucine intra-cytoplasmique [Figure 2]. Ces carcinomes infiltrent le parenchyme ovarien selon 2 modes aux pronostics différents: le mode expansif au meilleur pronostic, caractérisé par un aspect confluent des structures tumorales avec formation de massifs cribriformes ou de papilles épaisses anastomosées, et le mode infiltrant, de moins bon pronostic, caractérisé par des glandes, amas ou cellules isolées dispersés de manière irrégulière au sein du parenchyme ovarien.

Il n'existe pas de consensus pour le grade à utiliser pour ce type histologique. Les

carcinomes mucineux étant souvent bien différenciés sur un plan architectural, un grade basé sur le niveau d'atypie nucléaire comme la classification binaire de Malpica *et al* semble le plus adapté à ces carcinomes [13].

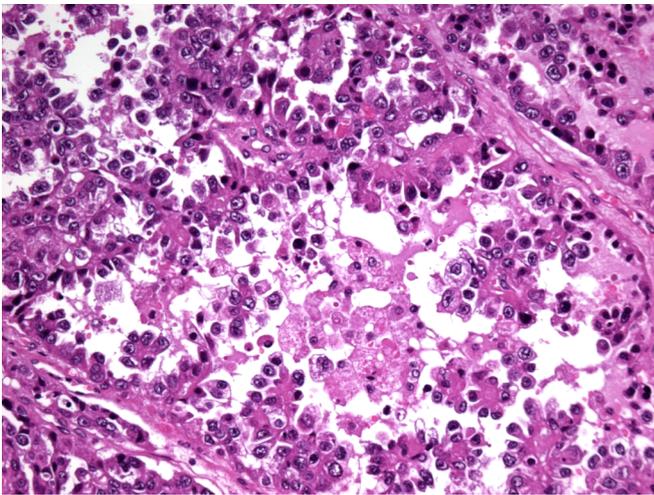
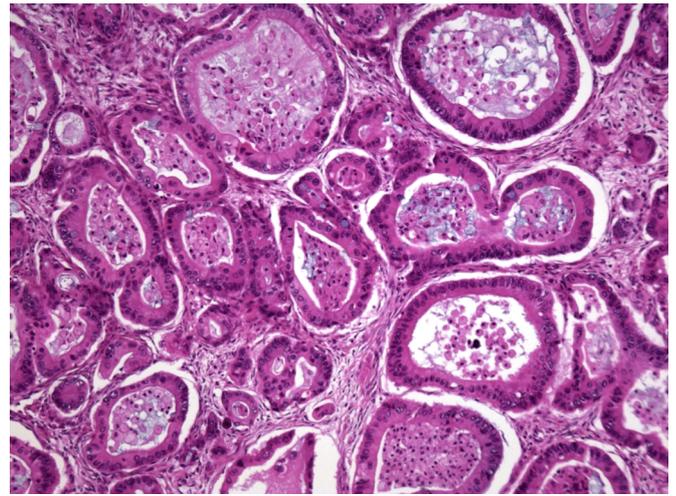
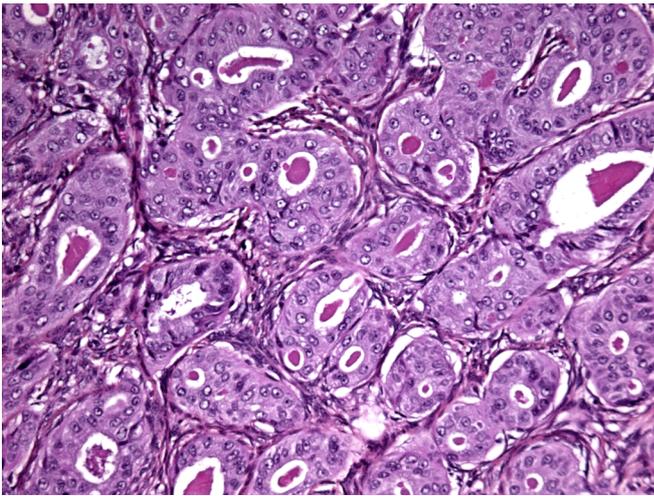
Le principal piège des carcinomes mucineux ovariens consiste à ne pas méconnaître une origine métastatique du carcinome, principalement d'origine digestive. Des critères morphologiques et immunohistochimiques permettent d'orienter le diagnostic, mais leur spécificité insuffisante ne dispense pas de la réalisation d'un bilan clinique et paraclinique.

#### **4. Carcinome à cellules claires**

Ils représentent 8.5% des carcinomes ovariens [9], dans 98% des cas unilatéraux. Les critères diagnostiques sont architecturaux et cytologiques. Il s'agit d'une tumeur d'architecture papillaire, tubulo-kystique ou solide comportant fréquemment un stroma hyalin. Sur le plan cytologique, l'épithélium est cubo-cylindrique unistratifié composé de cellules claires en « clous de tapissier » aux atypies cytonuléaires marquées [Figure 2].

Les carcinomes à cellules claires sont de haut grade par définition.

D'autres carcinomes ovariens sont décrits comme les carcinosarcomes (tumeur mixte müllérienne maligne), les carcinomes à cellules transitionnelles ou les carcinomes épidermoïdes mais sont plus rares.



A	B
C	

**Figure 2 Aspect histologique des carcinomes endométriode, mucineux et à cellules claires:**

(A) Carcinome endométriode (x200): prolifération tumorale d'architecture glandulaire ressemblant au carcinome endométriode de l'endomètre. Epithélium basophile cylindrique stratifié avec fusion glandulaire. (B) Carcinome mucineux, type infiltrant (x100): glandes de tailles variées infiltrant le tissu ovarien. Les cellules tumorales sont pourvues de vacuoles de mucine. (C) Carcinome à cellules claires (x200): architecture papillaire, épithélium cubo-cylindrique unistratifié fait de cellules claires en « clous de tapissier » aux atypies cytonucléaires marquées.

## **D. LES DIFFÉRENTS TYPES HISTOLOGIQUES DE CARCINOMES OVARIENS TÉMOIGNENT DE CANCERS DISTINCTS**

---

**Les différents types de carcinomes ovariens possèdent des voies de cancérogenèse spécifiques et il semble qu'ils ne dérivent pas de la même cellule d'origine.**

### **1. Voies de cancérogenèse**

On a vu que les différents types histologiques de carcinomes ovariens étaient caractérisés par des présentations cliniques et des pronostics différents. Ces différences sont connues depuis plus d'une vingtaine d'années. Cependant, les traitements étaient relativement standardisés jusqu'alors: tous les types de carcinomes étaient traités de la même façon. A l'aube du développement des thérapies ciblées, des études moléculaires corrélées aux critères diagnostiques morphologiques ont permis d'étayer un nouveau modèle de cancérogenèse pour les carcinomes de l'ovaire [14, 15].

**Les carcinomes ovariens sont ainsi classés selon 2 groupes correspondant à 2 modes de cancérogenèse distincts:**

- Les carcinomes de type I, représentant environ 25% des carcinomes ovariens, se développent à partir de précurseurs bien établis (kystes épithéliaux bénins, endométriose par exemple) et présentent une évolution multistep: lésion bénigne puis frontière puis carcinomateuse. Cette catégorie associe les carcinomes séreux et endométrioïdes de bas grade, les carcinomes mucineux et à cellules

claires. Du fait d'une évolution multistep progressive et d'une évolutivité peu importante aux phases précoces, ils sont en général diagnostiqués à un stade plutôt précoce et pourraient faire l'objet de politiques de dépistage. Même si les carcinomes à cellules claires sont par définition des tumeurs de haut grade, ils présentent la plupart des caractéristiques des carcinomes de type I: leur découverte souvent à un stade précoce, leur développement à partir d'un précurseur établi (l'endométriase) et ils partagent les anomalies moléculaires des carcinomes de type I (cf infra).

- Les carcinomes de type II, représentant environ 75% des carcinomes ovariens, regroupent les carcinomes séreux et endométrioides de haut grade, les carcinomes indifférenciés et les tumeurs mixtes mülleriennes malignes (carcinosarcome). Ces carcinomes surviennent de novo sans précurseur connu (absent ou d'évolution trop fugace pour être détecté?). Ils sont plus agressifs et le plus souvent diagnostiqués à un stade avancé.

### **Les carcinomes de type I et de type II différent par leurs caractéristiques moléculaires [15, 16]:**

- Les carcinomes de type I sont génétiquement plus stables que les types II et présentent des mutations spécifiques. En effet, des mutations de KRAS, BRAF et ERBB2 (HER2) sont observées dans les 2/3 des carcinomes de type I alors que les mutations de P53 sont rares. Les carcinomes endométrioides de bas grade présentent des modifications de la voie de signalisation Wnt (mutation somatique de CTNNB1 encodant Béta-caténine), de PTEN et PIK3CA [8]. 50% des

carcinomes mucineux présentent des mutations de KRAS. Les carcinomes à cellules claires présentent un haut pourcentage de mutation de PIK3CA [16].

- Les carcinomes de type II (haut grade) sont caractérisés par un profil génétique instable avec la présence de fréquentes mutations de p53 (plus de 80% des cas) et de CCNE1 (encodant cycline E1) mais ne présentent que très rarement les mutations caractérisant les carcinomes de type I (KRAS, BRAF, ERBB2, PTEN, CTNNB1 et PIK3CA).

Ces données suggèrent que les différents types de carcinomes ovariens se développent selon des voies de cancérogenèse distinctes et amènent donc à penser que des thérapeutiques différentes sont nécessaires, adaptées aux diverses altérations moléculaires mises en évidence.

## **2. Différentes cellules d'origine**

Connaître les structures normales desquelles proviennent les carcinomes ovariens est capital. Cela permettrait d'orienter les tissus à cibler pour d'éventuels dépistages voire des traitements préventifs. Jusqu'alors, différentes conceptions se sont opposées sur l'origine des carcinomes ovariens.

Des théories « historiques » rapportent que les carcinomes de l'ovaire résulteraient de la transformation maligne de cellules épithéliales de la surface ovarienne (mésothélium). L'ovulation serait responsable de l'accumulation d'anomalies génétiques du fait de la nécessité d'une réparation périodique incessante de l'épithélium de surface ovarien en phase post-ovulatoire [1]. Il en résulterait la formation de kystes d'inclusion de l'épithélium de surface ovarien qui, selon des

mécanismes de métaplasie müllerienne sous l'influence de facteurs locaux notamment hormonaux, donneraient naissance aux différents types de carcinomes (séreux, endométrioïde, à cellules claires, mucineux et à cellules transitionnelles) [15].

Des modèles plus récents s'opposent à ces théories. D'autres auteurs avancent que les tumeurs présentant un phénotype müllérien (séreux, endométrioïde et à cellules claires) dérivent de tissus müllériens et non du mésothélium recouvrant l'ovaire qui lui, a une origine embryologique coelomique non müllerienne [17]. Cheng *et al* [18] ont étudié le profil d'expression de certains gènes responsables de la segmentation corporelle de l'appareil génital féminin, les gènes HOX, et ont montré que les carcinomes séreux, endométrioïdes et mucineux avaient le même profil d'expression concernant ces gènes que les cellules épithéliales de la trompe, de l'endomètre et de l'endocol respectivement. Ces données suggèrent que ces carcinomes ont bien une origine müllerienne et non mésothéliale.

La trompe, l'endocol et l'endomètre ne semblent pas être les seuls sites où l'on observe des cellules épithéliales dérivées des canaux de Müller. Des reliquats embryonnaires bordés d'épithélium müllérien sont fréquemment rencontrés dans le tissu paraovarien, paratubaire et dans la médullaire ovarienne et font partie, comme les lésions d'endométriose, d'endosalpingiose et d'endocervicose, du «système müllérien secondaire» [17]. Les différents composants de ce système pourraient représenter une source unique aux différents types histologiques. Quand la tumeur grossit, cela comprime le tissu ovarien environnant aboutissant à une masse annexielle donnant l'apparence d'une origine ovarienne. Cette théorie est remise en question par le fait qu'il n'est pas observé de lésions kystiques paratubaires ou

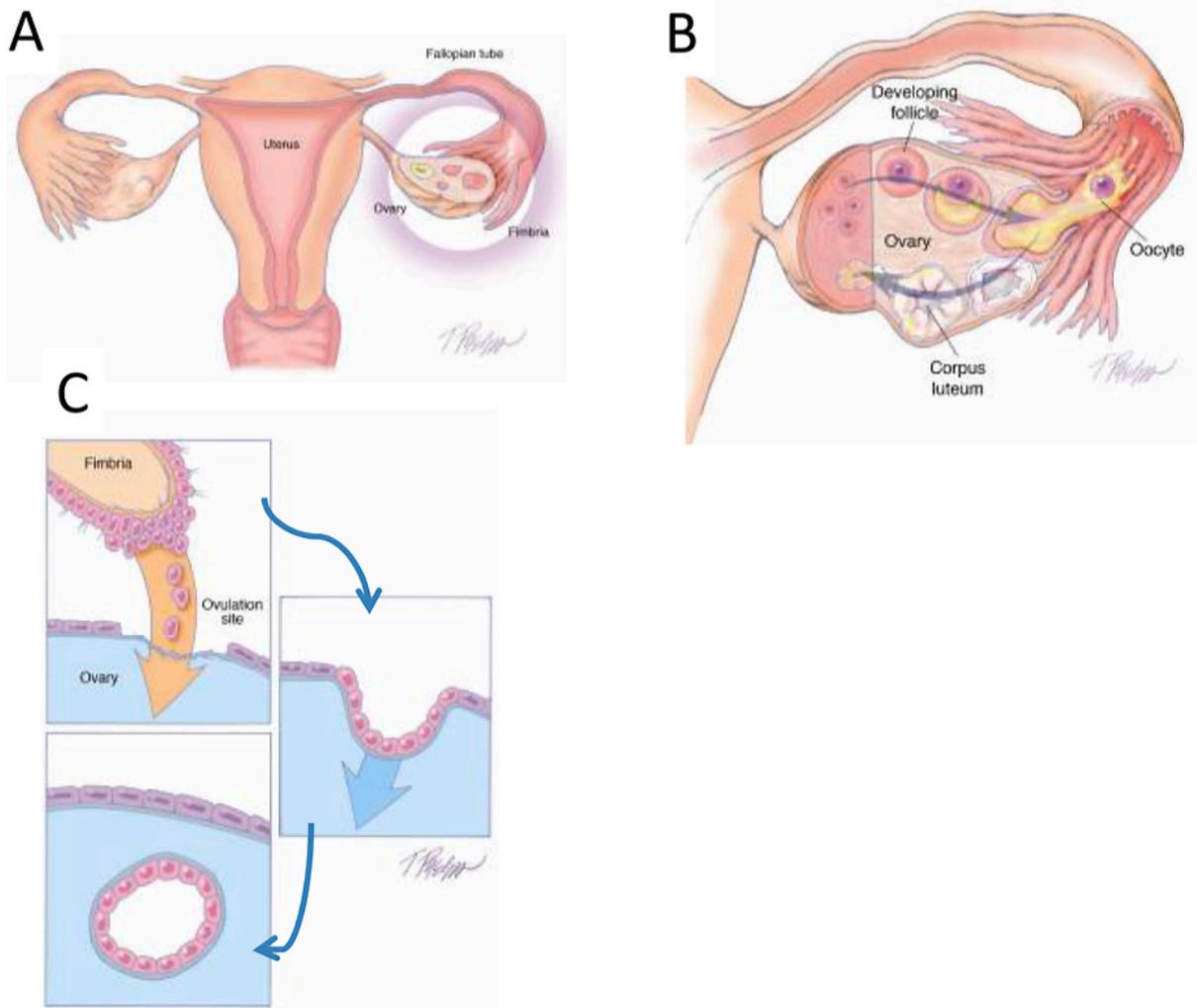
paraovariennes bordées d'un épithélium ressemblant aux carcinomes séreux, endométrioides ou à cellules claires [15].

#### **a) Origine des tumeurs séreuses**

D'autres auteurs avancent que la majorité des carcinomes ovariens, qui sont des carcinomes séreux de haut grade, se développent à partir de carcinomes séreux intra-épithéliaux de haut grade situés dans la trompe, qui s'étendraient ensuite à l'ovaire de manière secondaire. Des lésions de carcinome tubaire in situ ou invasif ressemblant au carcinome séreux de haut grade ont été observées chez les patientes présentant une prédisposition génétique au carcinome ovarien [19, 20]. Ces mêmes lésions de carcinome séreux intra-épithélial tubaire appelées STIC (serous tubal intra-epithelial carcinoma) ont également été observées dans de nombreux cas sporadiques (non héréditaires) de carcinome séreux ovarien ou péritonéal de haut grade [15]. Ceci amène à penser que les lésions de STIC, quasiment toujours observées au niveau du pavillon, seraient à l'origine des carcinomes séreux de haut grade aussi bien dans les cas familiaux liés à une mutation des gènes BRCA1/2 que dans les cas sporadiques. Le pavillon présente une vascularisation lymphatique importante, qui de plus, est très proche de la membrane basale épithéliale. De ce fait, les carcinomes tubaires, même de petite taille, peuvent s'étendre de façon précoce [15]. Le fait que ces lésions de STIC soient discontinues montre qu'il est peu probable qu'elles soient liées à une dissémination secondaire d'un carcinome ovarien. De plus, dans les cas héréditaires, les lésions de STIC sont parfois isolées sans mise en évidence de lésion carcinomateuse ovarienne [21].

Si les carcinomes séreux sont d'origine tubaire, la question se pose de savoir pourquoi il existe des carcinomes séreux ovariens sans lésion tubaire associée visible. Plusieurs hypothèses ont été avancées [15]:

- En premier lieu, il est possible que ce soit un problème d'échantillonnage et qu'en faisant des plans de coupe supplémentaires, certains foyers de carcinome tubaire soient visibles.
- En second lieu, certains carcinomes de haut grade sont intimement liés à une tumeur séreuse frontière ou à un carcinome séreux de bas grade. Ces cas présentent des mutations de KRAS sans mutation de p53. Cela suggère que certains carcinomes séreux de haut grade sont issus de l'évolution de carcinomes séreux de bas grade.
- En troisième lieu, il est possible que dans certains cas, le carcinome ne naisse pas dans la trompe mais à partir de kystes d'inclusion formés à partir de cellules épithéliales pavillonnaires incluses suite à l'ovulation [Figure 3].

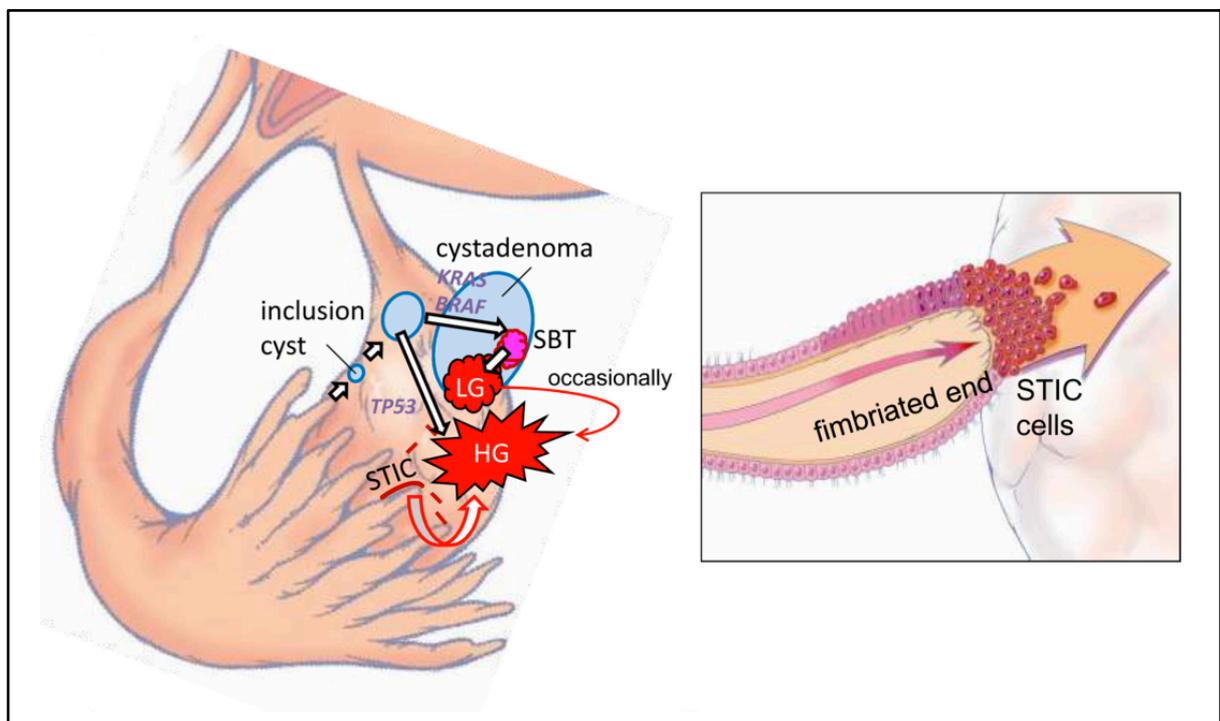


**Figure 3: Représentation schématique de la formation de kystes d'inclusion épithéliaux dans l'ovaire à partir de l'épithélium tubaire au moment de l'ovulation.**

A. La trompe enveloppe l'ovaire lors de l'ovulation. B. Rapport intime entre l'ovaire et la trompe lors de la rupture de la surface ovarienne pour le transfert de l'ovocyte. C. Les cellules épithéliales tubaires sont délogées et s'implantent à la surface de l'ovaire, favorisant la formation de kystes d'inclusion.

Tiré de Kurman 2010 [15]

Cette hypothèse pourrait expliquer la genèse des carcinomes séreux de bas et haut grades. Les carcinomes séreux de bas grade se développeraient à partir de tumeurs frontières issues de cystadénomes suite à l'apparition de mutations de KRAS ou BRAF. Dans le cas des carcinomes de haut grade, le processus serait plus rapide avec le développement à partir des kystes d'inclusion de lésions de carcinome séreux intra-épithélial sous l'influence de mutations de p53. Selon ce modèle, les carcinomes séreux de bas et haut grades seraient d'origine tubaire [Figure 4].



**Figure 4: Représentation schématique de la genèse des carcinomes séreux de bas grade (LG) à partir de tumeurs séreuses borderlines (SBT) et des carcinomes séreux de haut grade à partir de lésions de STIC.**

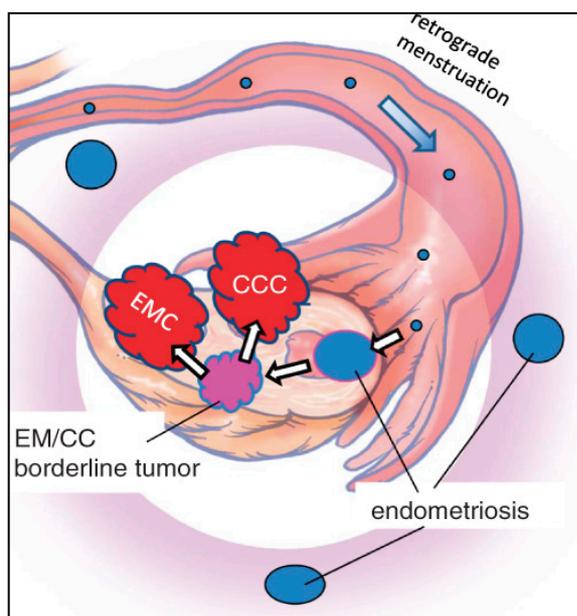
Tiré de Kurman 2010 [15]

- Enfin, la trompe est parfois difficilement identifiable et cela peut-être du fait qu'elle est à l'origine du carcinome. Il est d'ailleurs fréquent que les carcinomes ovariens se présentent comme une masse annexielle para-ovarienne [22].

D'autres auteurs avancent que les carcinomes séreux de bas grade auraient pour origine des lésions d'hyperplasie papillaire tubaire récemment mises en évidence de façon fréquente en contexte de tumeur ovarienne frontière. Ces touffes papillaires peu cohésives seraient à l'origine d'implants ovariens donnant naissance aux tumeurs frontières ovariennes et responsables des implants péritonéaux [16].

### b) Origine des tumeurs endométrioides et à cellules claires

Il a été établi selon des critères morphologiques et moléculaires que les carcinomes endométrioides de bas grade et les carcinomes à cellules claires se développent à partir de lésions d'endométriose (tissu endométrial donc müllérien). Il a d'ailleurs été montré que l'endomètre des patientes ayant des lésions d'endométriose présentait des altérations moléculaires dont l'activation de certaines voies de l'oncogénèse [15]. L'endométriose serait, elle, liée à un mécanisme de flux rétrograde de muqueuse endométriale lors des menstruations. L'hypothèse de l'origine endométriale de ces carcinomes est appuyée par l'effet protecteur de la ligature de trompes vis à vis de ces types de carcinome [Figure 5] [23].



**Figure 5: Représentation schématique de la transformation de lésions d'endométriose en carcinome endométrioides (EMC) ou en carcinome à cellules claires (CCC).**

Tiré de Kurman 2010 [15]

### **c) Origine des tumeurs mucineuses et de Brenner**

Les tumeurs de Brenner et les carcinomes mucineux de type intestinal ne présentant pas un phénotype müllerien; leur origine semble donc différente des autres types de carcinome. Ces 2 types de tumeurs étant fréquemment associés, certains auteurs avancent qu'ils ont la même origine histologique, à savoir une métaplasie transitionnelle à la jonction péritonéo-tubaire [15].

**Il semblerait donc selon la littérature que les tumeurs épithéliales ovariennes aient toutes une origine extra-ovarienne et qu'elles atteindraient l'ovaire de manière secondaire.** Les carcinomes séreux dériveraient du pavillon tubaire soit par le biais d'un carcinome intra-épithélial tubaire, soit par le biais de la cancérisation de kystes d'inclusion d'épithélium tubaire lors de l'ovulation. Les carcinomes endométrioides et à cellules claires dériveraient de tissu endométrial ayant fait l'objet d'un flux rétrograde à travers la trompe lors des menstruations et ayant conduit à la genèse de lésions d'endométriose. Les tumeurs mucineuses et tumeurs de Brenner auraient la même origine histologique située à la jonction péritonéo-tubaire.

Ainsi, les tumeurs germinales, stromales et des cordons sexuels seraient les seules « vraies » tumeurs ovariennes.

## E. TRAITEMENT DU CANCER DE L'OVAIRE

---

**Le traitement standard des cancers de l'ovaire à un stade avancé (stade III et IV) repose sur une chirurgie de réduction tumorale maximale et une chimiothérapie** associant le plus souvent sels de platine et taxane (paclitaxel ou docetaxel).

Si un carcinome ovarien est suspecté sur la clinique et l'imagerie, une chirurgie exploratrice est réalisée afin d'obtenir une confirmation histologique et d'évaluer la possibilité d'une exérèse complète du carcinome. La chirurgie doit être réalisée de préférence par un opérateur entraîné et spécialisé dans la pathologie ovarienne tumorale, afin d'effectuer une stadification chirurgicale complète. Elle consiste à réaliser: une cytologie péritonéale première, une hystérectomie totale non conservatrice, un examen minutieux du péritoine avec biopsies/exérèses multiples, une omentectomie et une lymphadénectomie pelvienne et lombo-aortique. Plus de 30% des patientes présentant un stade macroscopiquement précoce présentent en fait une atteinte plus étendue sur le plan microscopique [24], d'où l'importance de la réalisation de biopsies étagées et systématiques notamment péritonéales lors du geste chirurgical.

Un traitement chirurgical optimal est défini par une cytoréduction maximale correspondant dans la littérature à la présence d'un résidu tumoral nul ou inférieur à 1cm [1, 25]. Le pronostic est directement lié à la présence et à la taille du résidu tumoral post-chirurgical avec les meilleures chances de survie en cas de chirurgie initiale complète (résidu tumoral nul) [26, 27]. Toutefois, il est évident qu'en pratique cet objectif ne peut être constamment atteint, notamment sans une morbi-mortalité

péri-opératoire importante. Pour parvenir à un résidu opératoire nul, des procédures chirurgicales peuvent dépasser le domaine de la seule chirurgie gynécologique et faire appel à des compétences pluridisciplinaires [28]. Si la chirurgie et la chimiothérapie restent les piliers du traitement de cette tumeur, la séquence de ces traitements fait depuis quelques années l'objet de nombreux débats. **Dans les stades avancés, la réalisation d'une chimiothérapie néoadjuvante avant une chirurgie dite « d'intervalle » permettrait une réduction tumorale optimale dans plus de cas avec une morbi-mortalité moindre du fait de résections moins étendues comparées à la chirurgie première [29, 30].** Ainsi, Vergote *et al* [31] ont montré dans une étude prospective que dans les cancers de l'ovaire à un stade avancé (IIIc et IV), une chirurgie de résection optimale (résidu tumoral inférieur à 1cm) était possible chez 41,6% des patientes traitées par chirurgie première, alors qu'elle était possible dans 80% des cas chez les patientes traitées par chimiothérapie néoadjuvante. Les survies globale et sans progression étaient similaires dans les 2 groupes. **La résection macroscopique complète, au cours de la chirurgie première ou d'intervalle, était le facteur pronostique indépendant le plus fort de survie prolongée.**

## F. ÉVALUATION DE LA RÉPONSE À LA CHIMIOTHÉRAPIE

---

**L'émergence d'une stratégie thérapeutique associant une chimiothérapie néoadjuvante suivie d'une chirurgie d'exérèse amène à tenter de développer des méthodes d'évaluation de la réponse à la chimiothérapie.**

**L'appréciation de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante ne repose pas à ce jour sur des critères histologiques** mais sur des critères biologiques (dosage sérique du CA125), d'imagerie TDM ou IRM ou sur les constatations per-opératoires lors de la chirurgie d'intervalle. Or, les thérapeutiques cytotoxiques conduisent à des modifications histopathologiques au sein des tissus tumoraux appréhendables par les Pathologistes. Du fait de la chimiothérapie, apparaît un infiltrat lymphocytaire et histiocytaire avec activation macrophagique ayant pour conséquence la présence d'histiocytes spumeux et de cellules géantes de type corps étranger [32]. Parallèlement, il existe des modifications des cellules tumorales comme l'augmentation de leur taille avec une baisse du rapport nucléo-cytoplasmique, une vacuolisation cytoplasmique ou la présence de cellules tumorales multinucléées. D'autres signes histologiques sont considérés comme liés au traitement: la présence de séquelles d'hémorragie comme les pigments d'hémosidérine, les cristaux de cholestérol, les calcifications dystrophiques et spécifiquement dans l'ovaire, la présence de psammomes isolés [32]. Enfin, un traitement efficace a pour effet la présence d'un aspect cicatriciel au niveau du site tumoral.

**La régression tumorale histologique a été établie comme la référence pour l'évaluation de la réponse au traitement dans différents types de tumeurs solides.** Initialement développée dans les ostéosarcomes, différents grades histopathologiques de réponse ont été définis, basés sur le rapport entre la tumeur viable résiduelle et la présence de signes de régression dans le tissu tumoral persistant.

Par exemple, plusieurs grades ont été proposés afin d'aboutir à une notion plus standardisée de la réponse au traitement dans les cancers du sein [33, 34], de l'œsophage [35] et du colon [36].

En France et pour certaines équipes, l'analyse de la pièce opératoire d'un carcinome mammaire après chimiothérapie néoadjuvante fait appel à deux principales classifications histologiques. Elles sont utilisées en pratique courante et doivent figurer dans le compte rendu anatomopathologique: les classifications de Chevallier et de Sataloff. Ces deux classifications prennent en compte la réponse histologique sur la tumeur initiale et sur les ganglions du curage axillaire [Tableaux 1 et 2].

Réponse histologique	Grade de Chevallier
Complète	<b>Grade 1:</b> absence de cellule tumorale (sein et ganglions axillaires)
Incomplète ou partielle	<b>Grade 2:</b> présence de carcinome in situ dans le sein sans tumeur invasive et absence de métastase axillaire <b>Grade 3:</b> présence de cellules carcinomateuses résiduelles avec altérations stromales telles que de la fibrose
Pas de réponse	<b>Grade 4:</b> peu ou pas de modifications de l'apparence de la tumeur

Tableau 1 : Classification de Chevallier [33]

Réponse histologique	Grade de Sataloff: TUMEUR	Grade de Sataloff: GANGLIONS
Complète	<b>Ta:</b> effet thérapeutique total ou presque total	<b>Na:</b> évidence d'un effet thérapeutique sans maladie métastatique résiduelle <b>Nb:</b> pas de métastase ni d'effet thérapeutique
Incomplète ou partielle	<b>Tb:</b> effet thérapeutique de plus de 50% mais pas total <b>Tc:</b> moins de 50% d'effet thérapeutique	<b>Nc:</b> métastase présente avec évidence d'un effet thérapeutique
Pas de réponse	<b>Td:</b> pas d'effet thérapeutique	<b>Nd:</b> métastase présente et viable sans effet thérapeutique

Tableau 2 : Classification de Sataloff [34]

De même, Mandard *et al* [35] ont défini 5 grades de régression tumorale histologique (TRG 1 à 5) corrélés à la survie dans les carcinomes œsophagiens traités par radiochimiothérapie néoadjuvante. Ce grade est aujourd’hui réalisé en pratique courante et figure dans le compte-rendu anatomopathologique. Ainsi, selon des critères semi-quantitatifs, le pathologiste détermine le rapport tumeur/fibrose au sein de la pièce opératoire et définit un grade de régression tumorale [Figure 6]. Un grade élevé est associé à un moins bon pronostic.

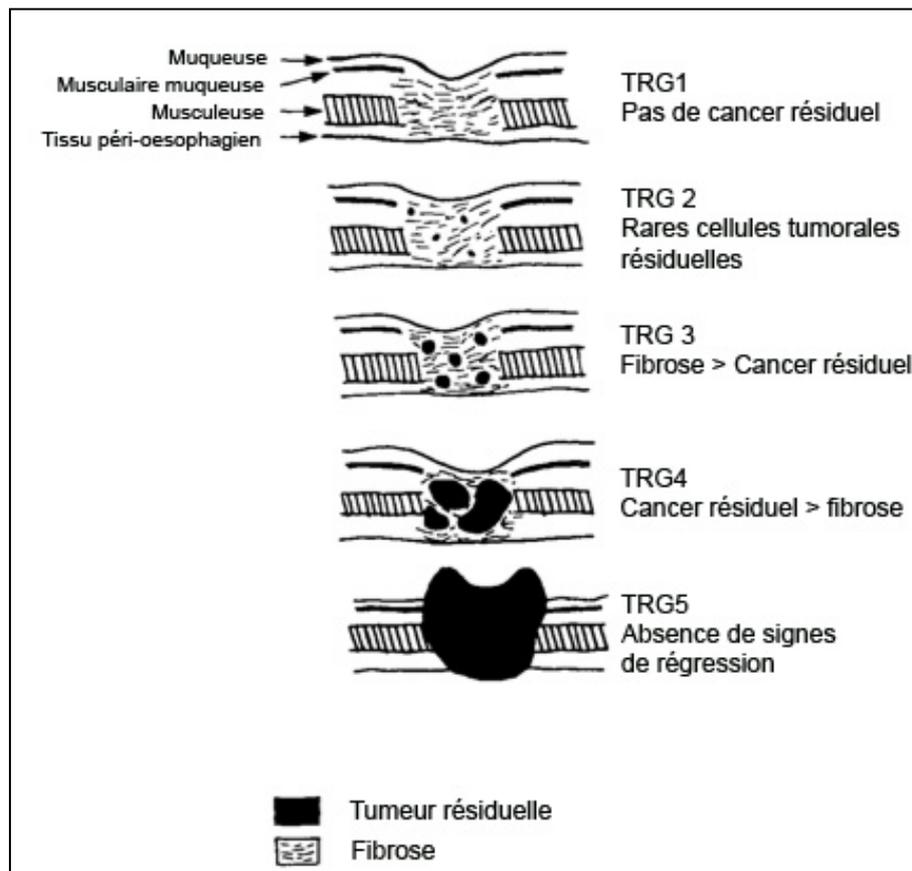


Figure 6 : Représentation de la régression tumorale histologique selon Mandard *et al* (TRG=Grade de régression tumorale) [35]

Rödel *et al* ont défini un score similaire pour les carcinomes rectaux traités par radiochimiothérapie néoadjuvante [36] [Tableau 3]. Ils ont montré qu'un grade de régression élevé (TRG 4, TRG 2 et 3) était associé à un meilleur pronostic.

Grades de régression tumorale (TRG)	Réponse histologique
TRG 0	Absence de régression
TRG 1	Régression mineure: tumeur dominante avec fibrose au sein de moins de 25% de la masse tumorale
TRG 2	Régression modérée: tumeur dominante avec fibrose au sein de 26 à 50% de la masse tumorale
TRG 3	Bonne régression: fibrose dominante, soit plus de 50% de régression tumorale
TRG 4	Régression complète: absence de cellules tumorales viables, fibrose seule.

**Tableau 3 : Classification selon Rödel *et al* [36]**

**Actuellement, il n'existe pas de classification histopathologique consensuelle d'appréciation de la régression tumorale post-chimiothérapie dans les cancers de l'ovaire.**

Plusieurs équipes ont étudié les carcinomes ovariens après chimiothérapie afin de déterminer un score de régression tumorale. Ainsi, Le *et al* [37] ont tenté d'établir un score basé sur la présence de plusieurs critères histologiques: fibrose, infiltrat macrophagique, nécrose et inflammation tumorale. Ferron *et al* [38] ont eux cherché à déterminer s'il existait une corrélation entre la présence de lésions de nécrose tumorale et de fibrose corrélées à l'index mitotique, et la survie. Une troisième

étude a été menée par l'équipe allemande de Sassen *et al* [39], qui elle, a cherché à mettre en évidence les critères histologiques les plus spécifiques de la réalisation d'une chimiothérapie. De nombreux critères étaient étudiés: le mode d'infiltration tumorale, la présence d'une fibrose, de nécrose, d'une inflammation, de psammomes ou d'histiocytes spumeux, ainsi que la présence de pigments d'hémosidérine, de cellules géantes multinucléées tumorales ou de type corps étranger. Un score était alors réalisé afin de préciser s'il existait une corrélation entre la présence de ces critères et la survie.

## G. ÉVALUATION DE L'INTÉRÊT PRONOSTIQUE DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE DANS LES CANCERS OVARIENS

---

On observe de façon fréquente la présence de lymphocytes intra-tumoraux dans de nombreux carcinomes, ceci suggérant que les tumeurs induisent une réponse immunitaire de l'hôte. Plusieurs études ont été réalisées afin d'évaluer la valeur pronostique de ces lymphocytes intra-tumoraux. Ainsi, la présence d'un infiltrat lymphocytaire T CD3+ au sein des carcinomes ovariens paraît corrélée à une survie prolongée [40]. Il semble que cette activité anti-tumorale soit préférentiellement médiée par les lymphocytes T CD8+ du fait de leur association à une survie prolongée dans de multiples cancers comme les cancers colorectaux [41], ovariens [42, 43], mammaires [44] ou pulmonaires [45]. Les antigènes tumoraux conduisent au développement d'une réponse immune adaptative spécifique à la tumeur [46].

D'autres auteurs ont isolé un sous-type lymphocytaire communément appelé lymphocyte T régulateur, semblant jouer un rôle important dans la réponse immunitaire anti-tumorale. Ces lymphocytes T régulateurs (Treg) étaient initialement définis comme des lymphocytes T CD4+ ayant des propriétés immunosuppressives et exprimant de façon constitutionnelle la sous-unité alpha du récepteur de l'interleukine 2 (CD25) à leur surface [47]. L'expression nucléaire de FoxP3 est maintenant considérée comme le marqueur le plus spécifique de ces cellules [48]. FoxP3 (Forkhead Box Protein 3), facteur de transcription de la famille des Forkhead, peut faire partie d'un large complexe d'environ 600kDa lorsqu'il est associé à d'autres facteurs de transcription [49] et entraîner une répression de la

production de l'interleukine 2 et d'autres cytokines pro-inflammatoires, diminuant les fonctions effectrices des lymphocytes T helper [50, 51, 52]. Cependant, les mécanismes d'accumulation intra-tumorale de ces Treg ne sont pas encore totalement élucidés. Les Treg circuleraient préférentiellement vers les tumeurs sous l'influence de cytokines produites par la tumeur et son environnement macrophagique [53].

Les Treg sont générés soit dans le thymus, soit à partir de lymphocytes T périphériques suite à l'induction d'une réponse immune spécifique [54, 55]. Au sein de modèles expérimentaux, il a été montré que des lymphocytes T CD4+ non régulateurs pouvaient se convertir en Treg sous l'influence du TGF-Béta, une cytokine souvent présente à un haut niveau dans l'environnement tumoral [56].

**Comme les Treg FoxP3+ sont des cellules immunosuppressives, il est supposé que leur présence au sein des tumeurs est associée à un mauvais pronostic.** De nombreuses études ont en effet rapporté que l'augmentation du nombre de Treg intra-tumoraux était associée à une survie diminuée dans les carcinomes ovariens [53], mammaires [57], les carcinomes du col utérin [58], les carcinomes hépatocellulaires [59], gastriques [60] ou pancréatiques [61]. Paradoxalement, pour les carcinomes coliques, on observe une survie prolongée lorsqu'il existe une plus forte densité de Treg FoxP3+ au sein du carcinome [62].

**Plusieurs études ont évalué la valeur pronostique de l'inflammation intra-tumorale dans les carcinomes ovariens. Elles ont quasiment toutes porté sur des tumeurs avant chimiothérapie [40, 42, 43, 53]; seule une série de petite taille a porté sur l'analyse de l'inflammation après chimiothérapie [63].**

# BUTS DE L'ÉTUDE

Au terme de cette introduction, plusieurs questions se posent à nous:

- Etant donné le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dans les cancers ovariens basées sur une chimiothérapie néoadjuvante suivie d'une chirurgie d'exérèse, **la mise en place d'une évaluation histopathologique de la régression tumorale est-elle possible?** Nous avons établi des critères d'évaluation basés sur les critères les plus fiables des classifications d'autres cancers utilisées en pratique courante. Nous avons ensuite étudié leur rapport avec le pronostic des patientes.

- La persistance d'une **prolifération au sein de la tumeur** pouvant être théoriquement témoin d'une « vitalité tumorale persistante » inversement corrélée à la régression, **nous avons évalué sa valeur pronostique.**

- **L'infiltrat inflammatoire intra-tumoral** semble être associé au pronostic des cancers dans la quasi-totalité des études ayant porté sur des tumeurs avant chimiothérapie. **Nous avons évalué la valeur pronostique de cet infiltrat après chimiothérapie néoadjuvante.**

- **Quelle est la valeur de l'étude de l'inflammation intra-tumorale sur la biopsie réalisée avant la chimiothérapie? Sa représentativité est-elle suffisante pour avoir une valeur pronostique?**

- Enfin, comme nous l'avons montré, les différents types histologiques de carcinomes ovariens témoignent de cancers très différents. **Nous avons donc**

**limité notre étude au type le plus fréquent, en particulier dans les stades évolués: le carcinome séreux de haut grade.**

# MATÉRIELS ET MÉTHODES

## A. SÉLECTION DES CAS

---

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur les patientes atteintes d'un carcinome séreux de haut grade de l'ovaire à un stade avancé (stades IIIc et IV) traité par chimiothérapie néoadjuvante puis chirurgie d'intervalle au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, de 2003 à 2011.

### **Critères d'inclusion de l'étude:**

- Carcinome séreux de haut grade.
- Stade avancé (IIIc et IV de la FIGO) ne permettant pas une chirurgie première de résection optimale.
- Diagnostic histologique réalisé sur biopsies ou annexectomie au centre hospitalier de Jeanne de Flandre.
- Prise en charge par chimiothérapie néoadjuvante par carboplatine et Taxol puis chirurgie d'intervalle.
- Etude histologique réalisée au Centre de Biologie Pathologie du CHRU de Lille.

### **Critères d'exclusion de l'étude:**

- Carcinome ovarien de type histologique autre que séreux de haut grade.
- Patiente évolutive sous chimiothérapie néoadjuvante rendant la chirurgie d'intervalle impossible.
- Geste chirurgical initial comportant plus d'une annexectomie bilatérale.

## B. ÉTUDE CLINIQUE

---

Pour chacune des patientes, nous avons recueilli l'âge, le stade FIGO, le type de chimiothérapie néoadjuvante effectuée ainsi que le nombre de cures réalisées.

Nous avons recueilli le volume tumoral résiduel en fin d'intervention selon les descriptions du compte rendu opératoire, différenciant les patientes dont l'exérèse tumorale était optimale (exérèse macroscopique complète ou résidu tumoral inférieur à 1cm) et celles dont l'exérèse n'était pas optimale (résidu tumoral supérieur à 1cm).

Nous avons étudié les survies globale et sans récurrence, à partir de la date du diagnostic clinique, d'une éventuelle récurrence ou du décès des patientes.

### 1. Etude histologique

#### a) Technique

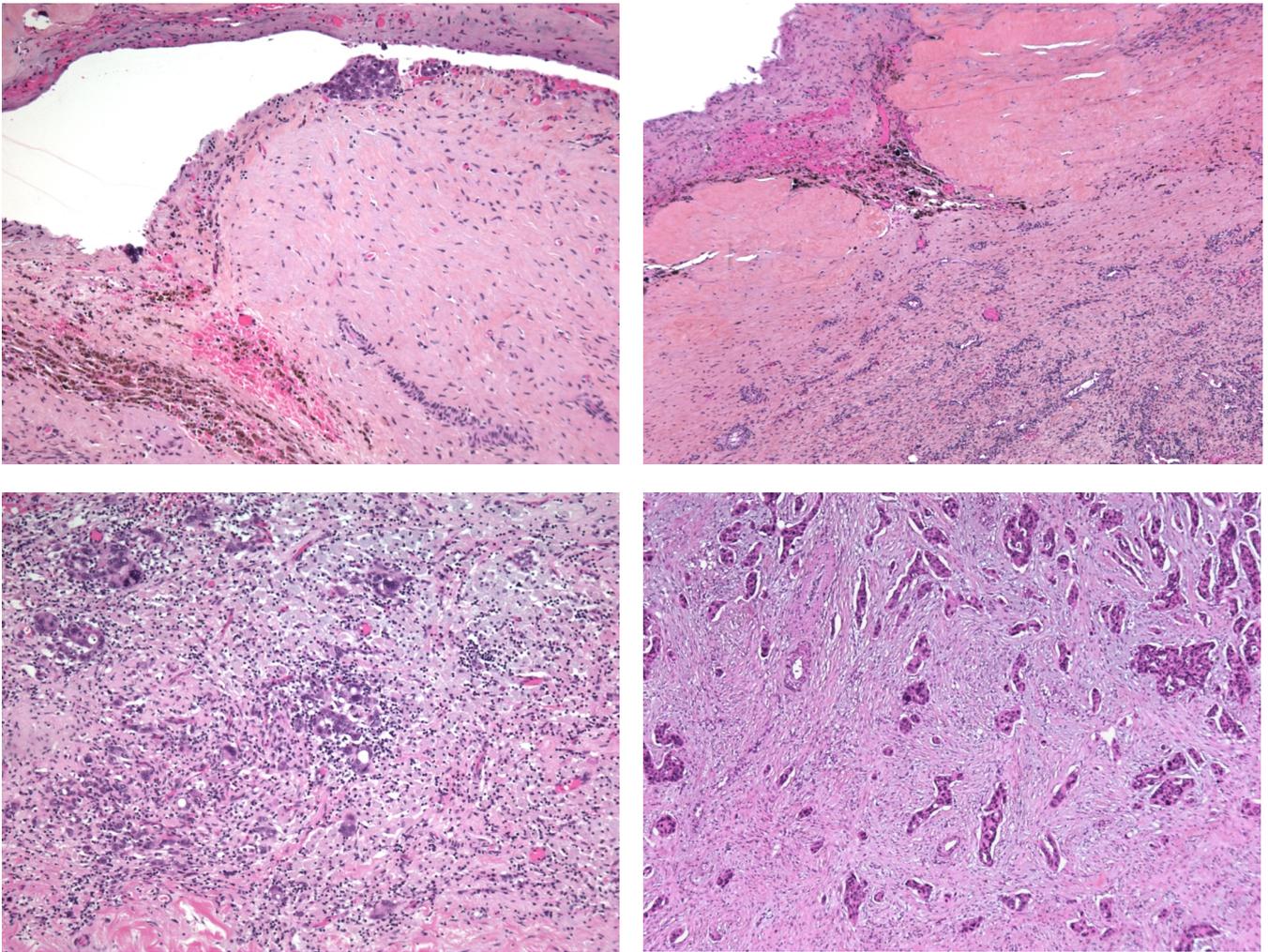
Toutes les pièces d'exérèse étaient échantillonnées après fixation par le formol. Les blocs d'inclusion étaient coupés à 4µm au microtome manuel. Les coupes étaient ensuite étalées sur lames sur un film d'eau glycinée-albuminée puis placées sur une plaque chauffante (étalement). Les lames étaient colorées par une coloration trichrome ou quadrichrome d'hémalum, éosine, safran +/- bleu astra (HES).

#### b) Critères de régression tumorale histologique

Nous avons sélectionné les critères les plus statistiquement associés à la réalisation d'une chimiothérapie néoadjuvante, comme décrit dans l'étude de Sassen *et al* [39], en réalisant un grade simple et reproductible.

Le principal critère de régression tumorale histologique évalué est la présence d'une fibrose remplaçant le tissu tumoral. Nous avons considéré que la présence d'une fibrose était d'autant plus liée à une régression tumorale qu'elle était associée à la présence d'histiocytes spumeux, de pigments d'hémosidérine/sidérophages ou d'une néovascularisation [Figure 7], critères que nous avons recherchés sur l'ensemble des lames des différents cas. La fibrose n'était considérée comme un critère de régression tumorale que lorsqu'elle était associée à un résidu tumoral adjacent faible. La présence d'une fibrose associée à la présence d'un résidu tumoral important était considérée comme une réaction stromale desmoplastique [Figure 7].

L'analyse histologique des biopsies pré-chimiothérapie était réalisable chez la majorité des patientes: dans un cas, le diagnostic histologique avant chimiothérapie n'était pas disponible au laboratoire. Afin de confirmer que les critères de régression tumorale sélectionnés sur pièce d'exérèse étaient spécifiques à la réalisation d'une chimiothérapie néoadjuvante, nous les avons recherchés sur les biopsies disponibles. Aucun de ces critères n'était présent en pré-chimiothérapie.



A	B
C	D

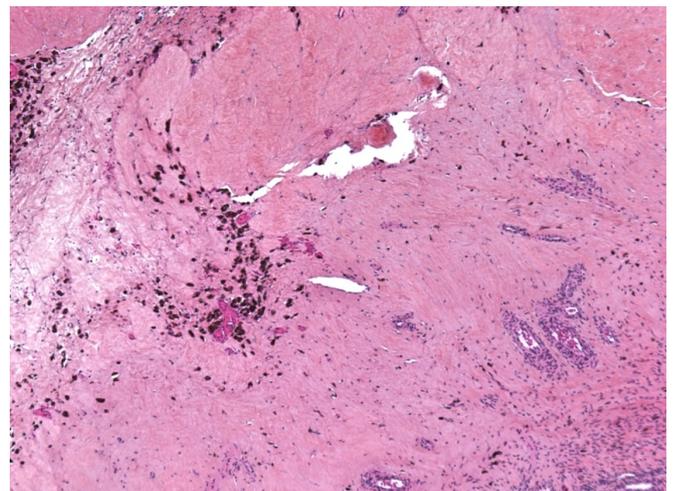
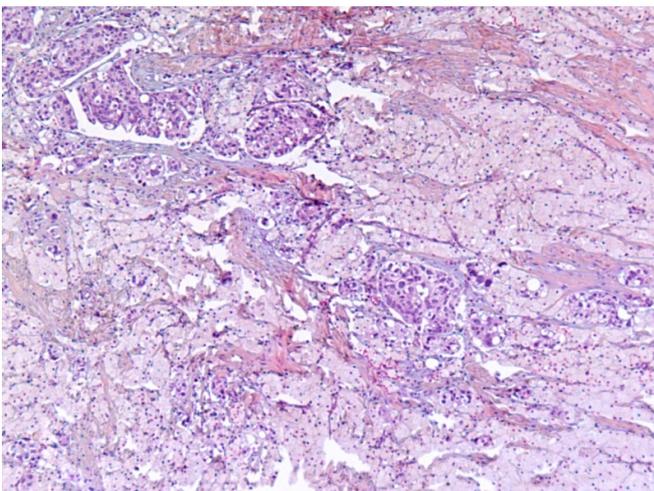
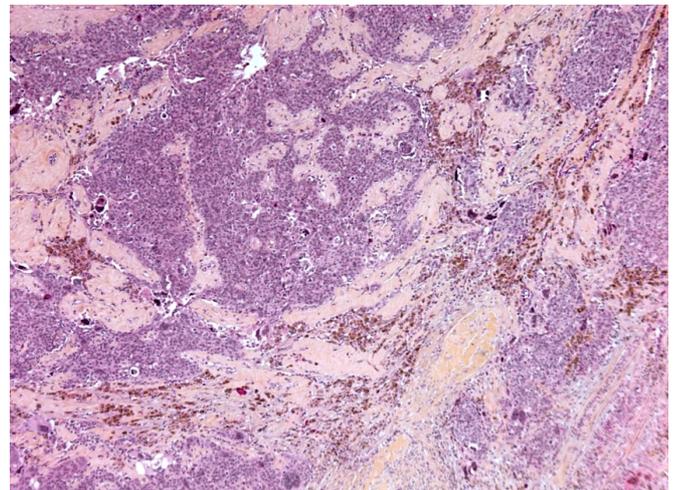
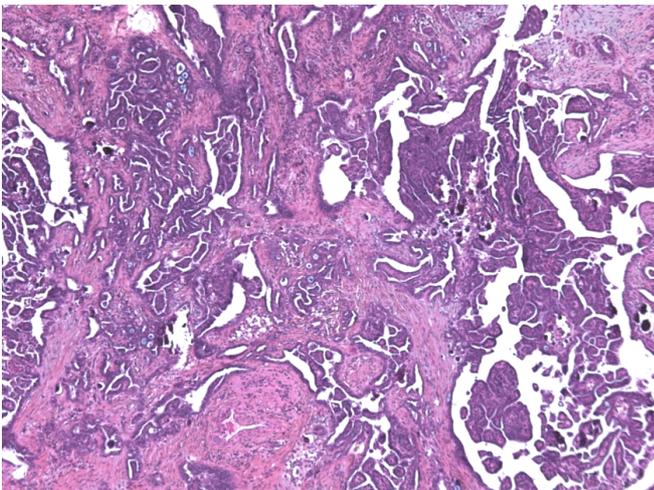
**Figure 7 : Critères de régression tumorale histologique**

(A) HES (x100): Persistance de rares cellules tumorales au sein d'une plaque fibreuse avec sidérophages. (B) HES (x50): Fibrose, néovascularisation, pigments d'hémosidérine témoignant d'une régression tumorale (lésion kystique) (C) HES (x50): Histiocytes spumeux (x100) au contact du reliquat tumoral témoignant de lésions de régression. (D) HES (x50): Fibrose abondante mais reliquat tumoral important témoignant d'une réaction stromale desmoplastique. Absence de sidérophages ou d'histiocytes spumeux.

**4 grades ont ainsi été définis comme suit:**

- 0: présence de signes de régression exceptionnels, caractérisant moins de 10% de la tumeur résiduelle = absence de signes patents de régression histologique.
- 1+: présence de signes de régression peu fréquents, caractérisant 10 à 50% de la surface tumorale (tumeur résiduelle > régression tumorale).
- 2+: présence de signes de régression fréquents, caractérisant 50 à 90% de la surface tumorale (régression tumorale > tumeur résiduelle).
- 3+: présence de signes de régression omniprésents avec réponse histologique quasi complète ou complète.

0	1+
2+	3+



Nous avons également recueilli l'index mitotique maximum (nombre de figures de mitoses pour 10 champs au fort grossissement, diamètre de champ de 0,62 mm) observé pour chacun des cas.

Par ailleurs, pour chaque cas, nous avons sélectionné 5 lames caractérisées par l'infiltrat lymphoïde intra-épithélial le plus important afin de le quantifier et de le typer par technique immunohistochimique.

## 2. Étude immunohistochimique

### a) Technique

Des coupes tissulaires de 4µm étaient réalisées à partir du matériel inclus en paraffine. Elles étaient étalées à l'aide d'eau albuminée à 2% sur lames silanées et séchées pendant 12 heures à l'étuve à 56°C. Les étapes de déparaffinage, de pré-traitement, d'incubation, d'amplification, de révélation et de contre-coloration étaient effectuées à l'aide d'automates Ventana Benchmark XT et ultra, assurant des résultats homogènes. Lorsqu'un pré-traitement était nécessaire, il était réalisé à l'aide d'un tampon pour hydrolyser les liaisons covalentes formées par le formol dans les tissus. La durée du pré-traitement ainsi que le tampon utilisé seront précisés pour chaque anticorps dans le tableau 4.

Le blocage de la peroxydase endogène était réalisé en mettant en contact les lames avec de l'eau oxygénée pendant 8 minutes. Elles étaient ensuite incubées avec les anticorps primaires. Ceux-ci étaient ensuite détectés par des anticorps secondaires biotinylés. La révélation de la réaction était réalisée par le biais d'un chromogène diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) appliqué pendant 8 minutes, produisant un précipité brun.

Les coupes étaient ensuite contre-colorées à l'hématoxyline. Le Bluing Reagent (solution de carbonate de lithium et de carbonate de sodium) ajouté à l'hématoxyline permettait d'obtenir une contre-coloration bleu clair permettant d'apprécier la morphologie du tissu examiné. Les coupes étaient par la suite deshydratées puis passées dans le xylène. Les lamelles étaient montées à l'Eukitt (Labonord©).

Spécificité	Clone	Laboratoire	Pré-traitement	Dilution Ac primaire	Temps d'incubation
CD3	LN10	Novocastra	CC1 30'	1/50	32'
CD20	L26	Biosystem	CC1 30'	1/100	20'
FoxP3	236A/E7	Abcam	CC2 60'	1/40	32'
CD8	C8/144B	Dako	CC1 30'	1/25	32'
Ki67	Mib1	Dako	CC1 60'	1/50	32'

**Tableau 4 :**

Caractéristiques et conditions d'utilisation des anticorps primaires pour l'étude immunohistochimique.  
 CC1 : tampon EDTA, CC2 : tampon citrate.  
 Ac : anticorps.

### **b) Interprétation des immunomarquages**

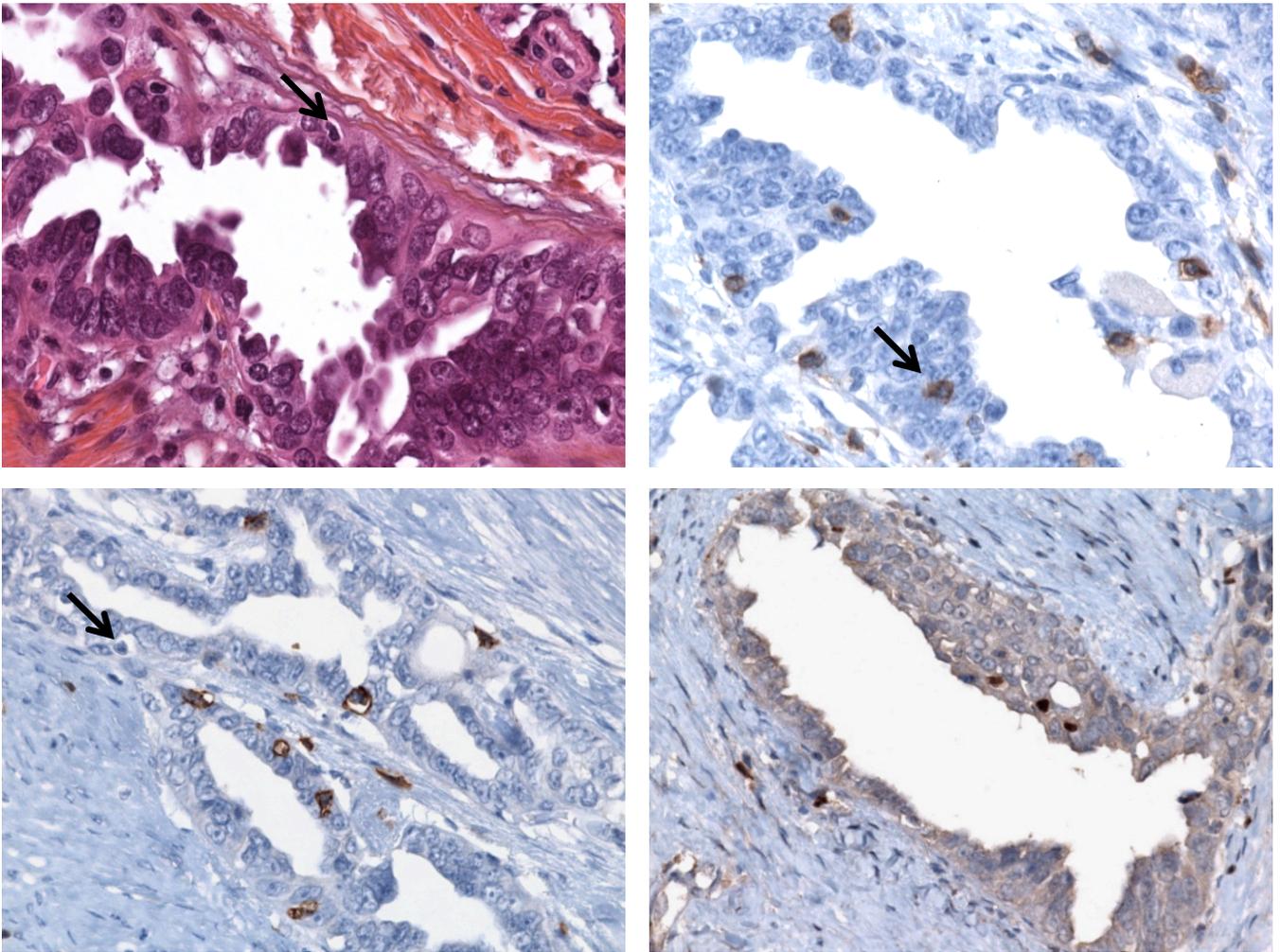
Les immunomarquages étaient analysés sans connaissance du statut évolutif des patientes. Les résultats immunohistochimiques étaient appréciés quantitativement.

Pour l'ensemble des anticorps, l'étude immunohistochimique était réalisée sur 5 lames représentatives sélectionnées par pièce d'exérèse et sur une lame représentative de chaque biopsie pré-thérapeutique.

Un marquage membranaire était considéré comme positif pour les anticorps anti-CD3, anti-CD8 et anti-CD20. L'anticorps anti-FoxP3 était considéré comme positif avec un marquage nucléaire. Pour les anticorps anti-CD3, CD8 et FoxP3, nous avons réalisé un compte des lymphocytes intra-épithéliaux marqués au sein des 5 lames sélectionnées par cas. Les lymphocytes étaient comptés manuellement et nous avons sélectionné la zone où le nombre de lymphocytes intra-épithéliaux était maximal sur la lame (le compte était réalisé au fort grandissement, diamètre de champ 0.62mm). Une moyenne était ensuite réalisée pour chaque patiente. Les lymphocytes étaient considérés comme intra-épithéliaux lorsqu'ils étaient situés au sein de l'épithélium tumoral, en contact direct avec les cellules carcinomateuses.

Les lymphocytes péri-épithéliaux, appartenant au stroma tumoral, n'étaient pas pris en compte, la seule localisation intra-épithéliale ayant prouvé son impact pronostique dans les carcinomes ovariens [42, 43] et colo-rectaux [64].

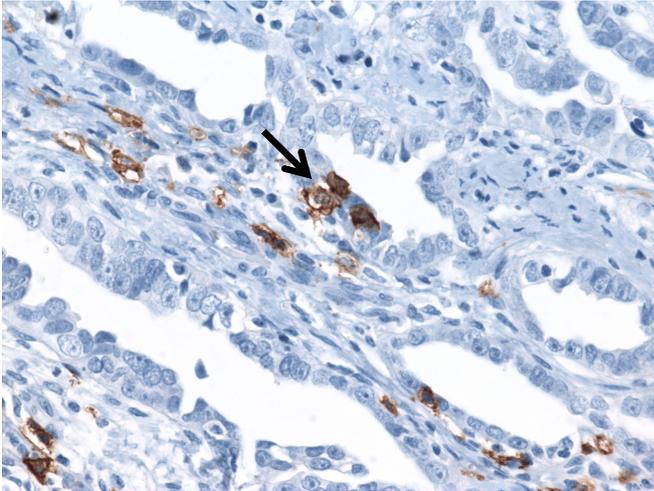
L'anticorps anti-Ki67 marque les noyaux des cellules entrées dans le cycle cellulaire (en phases G1, S, G2, M, à l'exclusion de G0) et caractérise ainsi l'index de prolifération. Nous avons réalisé un compte de l'expression du Ki67 de façon semi-quantitative, sans réaliser de compte sur un nombre donné de cellules. Pour l'examen des pièces d'exérèse, la moyenne de l'index de prolifération compté sur chacune des 5 lames était répertoriée.



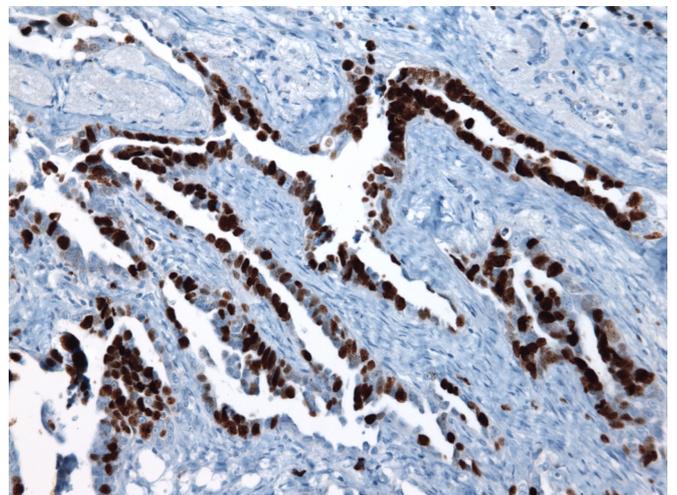
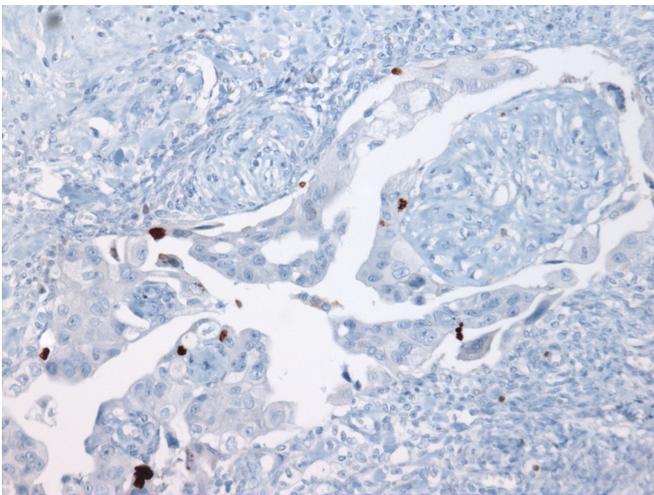
A	B
C	D

**Figure 8 : Etude immunohistochimique à l'aide des anticorps anti-CD3, CD8 et FoxP3.**

(A) HES (x400): lymphocytes intra-épithéliaux en partie visibles en coloration standard (flèche) (B) Anticorps anti-CD3 (x400): marquage membranaire des lymphocytes CD3+ (flèche). Les lymphocytes péri-épithéliaux ne sont pas pris en compte, ils appartiennent au stroma tumoral. (C) Anticorps anti-CD8 (x400): une partie des lymphocytes T est marquée par l'anticorps anti-CD8. A noter la présence de lymphocytes intra-épithéliaux non marqués par l'anticorps anti-CD8 (flèche). (D) Anticorps anti-FoxP3 (x400): marquage nucléaire des lymphocytes Foxp3+.



A	
B	C



**Figure 9 : Etude immunohistochimique à l'aide des anticorps anti-CD20 et anti-Ki67**

(A) Anticorps anti-CD20 (x400) : marquage membranaire des lymphocytes B intra-épithéliaux (flèche).  
(B) Anticorps anti-Ki67 (Mib1) (x200): marquage nucléaire des cellules engagées dans le cycle cellulaire. Index de prolifération faible. (C) Anticorps anti-Ki67 (x200): index de prolifération fort.

## C. ANALYSE STATISTIQUE

---

Le temps de survie cumulé a été estimé par méthode de Kaplan-Meier et les différences de survie ont été déterminées par test du log-rank pour analyse univariée. Le niveau de significativité a été établi à  $P < 0,05$ . Les données ont été censurées au dernier suivi pour les patientes en vie ou sans récurrence au moment de l'analyse.

La corrélation entre les infiltrats lymphocytaires sur biopsies et pièces opératoires et la corrélation entre l'index mitotique et l'index ki67 ont été effectuées par la méthode de Pearson et le niveau de significativité a été établi à  $P < 0,05$ .

# RÉSULTATS

## A. PARAMETRES CLINIQUES

---

Les caractéristiques cliniques des patientes sont résumées dans le tableau 5. L'âge moyen de la population étudiée au moment du diagnostic était de 63 ans (écart 47-74). Le stade selon la classification FIGO était IIIc pour 14 patientes et IV pour 4 patientes. Une chimiothérapie néoadjuvante par carboplatine/taxol était réalisée pour toutes les patientes, le nombre de cures variant de 6 à 8 (médiane 6).

Le délai entre la chimiothérapie néoadjuvante et la chirurgie d'exérèse variait de 3 à 8 mois.

Une patiente est décédée lors de l'intervention, elle n'a pas été incluse dans les analyses de survie.

L'exérèse était considérée macroscopiquement complète pour 13 patientes, un reliquat tumoral infra-centimétrique était noté pour une patiente. Le reliquat était de plus de 1 cm pour les 3 autres patientes.

A la fin de l'étude, 14 des 17 patientes (82%) avaient récidivé, et 9 patientes étaient décédées. La survie sans récurrence médiane était de 10 mois, la survie globale médiane de 24 mois.

Paramètres	Total
Nombre de patientes	18
Age, années : Médiane Ecart	63 47-74
Stade FIGO IIIc IV	14 (78%) 4 (22%)
Nombre de cures de chimiothérapie néoadjuvante : 8 7 6 Médiane	2 (11%) 4 (22%) 12 (67%) 6
Délai chimiothérapie néoadjuvante- chirurgie d'exérèse, mois : Médiane Ecart	5 3-8
Reliquat tumoral après chirurgie* : Absent < 1 cm > 1cm	13 (76%) 1 (6%) 3 (18%)
Evolution, mois* : Récidive Décès	14 (82%) 9 (53%)
Survie sans récurrence, mois* : Médiane Ecart	10 3-62
Survie globale, mois* : Médiane Ecart	24 10-94

\* Une patiente décédée pendant l'intervention n'a pas été incluse dans cette analyse.

**Tableau 5 : Caractéristiques cliniques des patientes**

## B. ÉVALUATION PRONOSTIQUE DES CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES

Le tableau 6 résume les résultats de l'évaluation pronostique des caractéristiques cliniques. Trois critères ont été étudiés: le stade au moment du diagnostic (IIIc ou IV), le nombre de cures de chimiothérapie néoadjuvante et le caractère complet ou incomplet de l'exérèse. Aucun de ces critères ne présentait de valeur pronostique sur la survie globale et la survie sans récurrence, en dehors du stade IIIc qui était associé à une survie plus longue sans récurrence (12 mois) que le stade IV (8 mois) (P=0,0005).

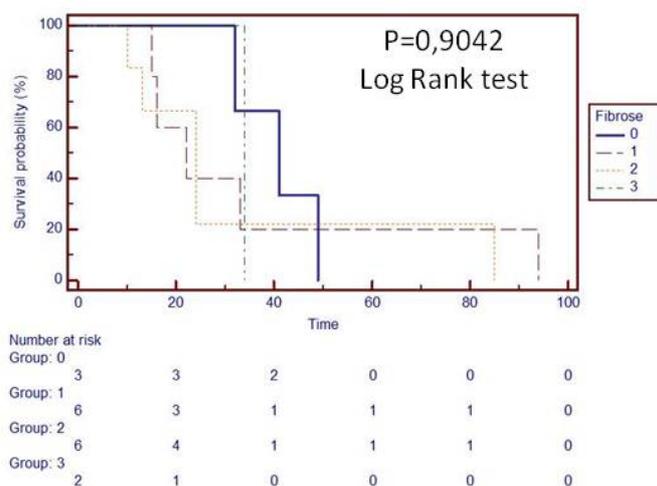
	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Sous-groupe 1	Sous-groupe 2			
Stade	IIIc (28)	IV (24)	1,2479	0,3678 - 4,2345	0,6954
Nombre de cures de chimiothérapie	6 (23,5)	>6 (33)	1,0907	0,3602 - 3,3026	0,8703
Qualité de l'exérèse	Complète (24)	Incomplète (27,5)	1,6086	0,4333 - 5,9719	0,3942

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Sous-groupe 1	Sous-groupe 2			
Stade	IIIc (12)	IV (8)	5,2599	0,6812 - 40,6143	<b>0,0005</b>
Nombre de cures de chimiothérapie	6 (10,5)	>6 (9)	1,1640	0,3797 - 3,5681	0,7584
Qualité de l'exérèse	Complète (11)	Incomplète (11,5)	1,7018	0,4481 - 6,4635	0,3068

**Tableau 6 : Temps de survie cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test, en fonction des paramètres cliniques.**

## C. ÉVALUATION PRONOSTIQUE DE LA RÉGRESSION TUMORALE APRÈS CHIMIOTHÉRAPIE

La régression tumorale a été évaluée selon 4 grades. L'analyse de la survie globale séparée de ces 4 grades par méthode de Kaplan-Meier ne montrait pas de valeur pronostique significative ( $P=0,9042$ ) [Figure 10] ainsi que l'analyse de la survie sans récurrence ( $P=0,5326$ ).

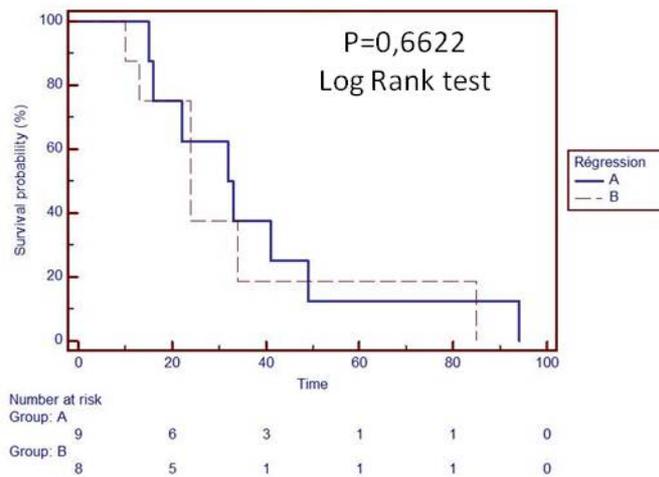


**Figure 10 : analyse par méthode de Kaplan-Meier de la survie globale pour chacun des 4 grades de régression tumorale.**

Etant donné le faible effectif de la population, chacun des quatre sous-groupes était faiblement représenté. Nous avons assemblé les sous-groupes 0 et 1 et les sous-groupes 2 et 3 afin d'augmenter la représentativité de l'analyse. Sur le plan pratique, la séparation des 2 nouveaux sous-groupes est assez simple, en distinguant les cas avec moins de 50% de régression tumorale (groupe A rassemblant les sous-groupes 0 et 1) des cas avec plus de 50% de régression (groupe B rassemblant les sous-groupes 2 et 3).

L'analyse de survie globale ne montrait cependant pas de signification pronostique

pour ces deux nouveaux groupes aussi bien pour la survie globale (hazard ratio = 1,2523 ; CI à 95% = 0,4243 - 3,6960 ; P = 0,6622) [Figure 11] que pour la survie sans récurrence (hazard ratio = 0,8759 ; CI à 95% = 0,3063 - 2,5052 ; P = 0,7840)



**Figure 11 : analyse de la survie globale par méthode de Kaplan-Meier des 2 groupes rassemblant les grades de régression tumorale : 0 et 1 pour le groupe A et 2 et 3 pour le groupe B.**

## D. ÉVALUATION PRONOSTIQUE DE LA PROLIFÉRATION APRES CHIMIOTHERAPIE

---

La prolifération tumorale après chimiothérapie était évaluée de deux façons:

- Compte mitotique maximum sur 10 champs à fort grossissement (x 400)
- Index de prolifération Ki67

Dans les deux cas l'évaluation se faisait au niveau de la zone la plus proliférante, en général dans la même région pour les 2 techniques, mais pas sur des coupes attenantes (le compte mitotique a été réalisé sur la coupe HES initiale de l'étude diagnostique, la technique immunohistochimique a été faite dans un deuxième temps lors de la nouvelle série de techniques dédiées à cette étude).

L'analyse des deux variables par test de corrélation de Pearson ne montre pas d'association « tout à fait significative » (coefficient de corrélation ( $r$ ) = 0,4617 ; CI à 95% = -0.04420 à 0.7792 ;  $P$  = 0.0718). La recherche d'une signification pronostique a donc été réalisée pour les 2 variables en séparant les sous-groupes par la médiane.

La survie globale médiane est plus élevée dans le groupe présentant une faible prolifération après chimiothérapie [Tableau 7]:

- Compte mitotique inférieur à 11 avec une survie de 33 mois contre 19 mois pour les tumeurs avec compte mitotique supérieur à 11.
- Index Ki67 inférieur à 30 avec une survie de 24 mois contre 21 mois pour les tumeurs avec index Ki67 supérieur à 30.

La différence entre les deux groupes prolifération élevée / prolifération faible semble plus nettement soulignée par l'évaluation du compte mitotique que par l'index Ki67, sans cependant atteindre de significativité pronostique dans les deux cas (P=0,1632 et P=0,9164 respectivement).

De la même façon, la survie sans récurrence est plus élevée dans les tumeurs faiblement proliférantes, aussi bien après évaluation par compte mitotique que par index Ki67, sans atteindre de significativité pronostique dans les deux cas (P=0,2332 et P=0,9128 respectivement) [Tableau 7].

	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	< médiane	> médiane			
Compte mitotique	33	19	1,9933	0,6154 - 6,4563	0,1632
Index Ki67	24	21	0,9471	0,3200 - 2,8033	0,9164

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	< médiane	> médiane			
Compte mitotique	12	10	1,7327	0,5537 - 5,4222	0,2332
Index Ki67	12	10,5	0,9500	0,3208 - 2,8131	0,9128

**Tableau 7 : Temps de survie cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test, en fonction du niveau de prolifération évalué par compte mitotique et index Ki67.**

## E. ÉVALUATION PRONOSTIQUE DE L'INFILTRAT LYMPHOCYTAIRE INTRA-TUMORAL APRES CHIMIOTHÉRAPIE

La distribution de l'infiltrat lymphocytaire exprimant CD3 et CD8 était relativement symétrique dans la population étudiée, nous avons donc adopté la médiane pour distinguer les deux sous-groupes « infiltrat lymphocytaire peu abondant » et « infiltrat lymphocytaire abondant » [Tableau 8 et graphique 1].

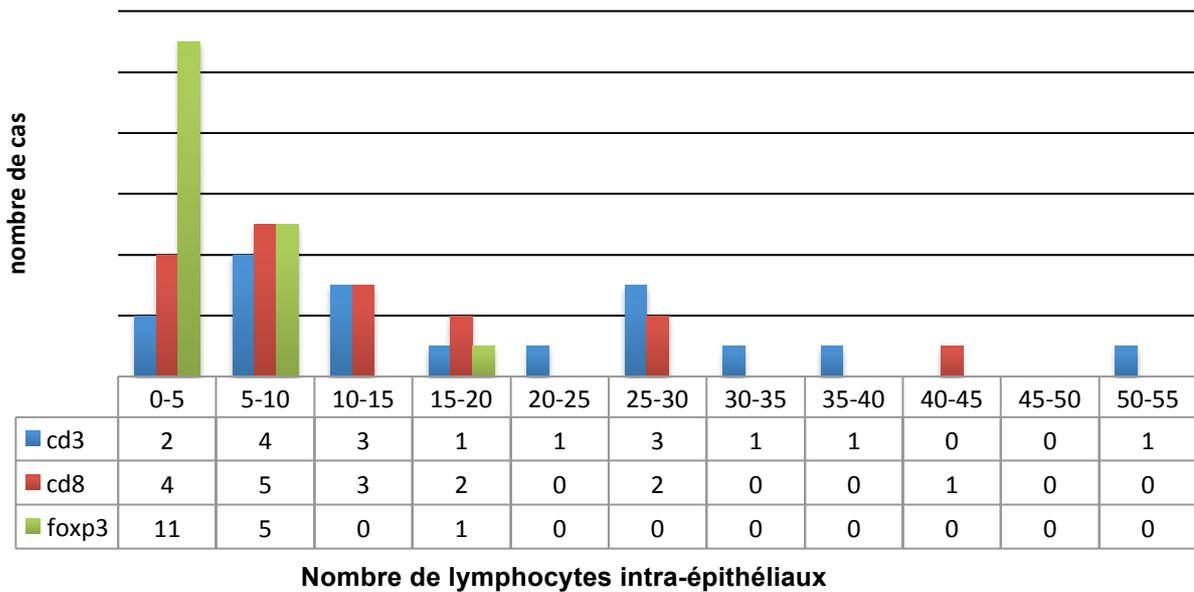
Par contre, une nette asymétrie de la distribution dans notre population était observée concernant l'expression de FoxP3 (de nombreuses patientes présentaient un infiltrat de faible abondance et une minorité un infiltrat de forte abondance). Deux analyses ont été réalisées, une en séparant les deux sous-groupes à partir de la médiane, une autre à partir du premier tertile [Tableau 8 et graphique 1].

Pour l'infiltrat lymphocytaire exprimant CD20, nous n'avons retenu que la présence ou l'absence d'un infiltrat intra-épithélial comme critère d'évaluation, sans le quantifier, étant donnée sa très faible abondance.

	Moyenne	Médiane	1 <sup>er</sup> tertile	Ecart-type	Ecart
CD3	18,9	14	Non utilisé	13,1	3,5-50,4
CD8	12,6	9,4	Non utilisé	12,5	2-42,6
FoxP3	4,1	2,4	1	4,6	0-18
CD8/CD3	0,67	0,67	Non utilisé	0,16	0,38-0,86
CD8/FoxP3 *	5,1	4,3	Non utilisé	3,9	0,69-11

\* 2 des 17 patientes ont été exclues de ce rapport (dénominateur FoxP3=0)

**Tableau 8 : Description statistique de l'infiltrat lymphocytaire**



**Graphique 1 : Histogramme représentant la fréquence des distributions de l'infiltrat lymphocytaire CD3, CD8 et FoxP3 dans la population.**

La présence de lymphocytes CD3<sup>+</sup> intra-épithéliaux a une valeur pronostique. Le sous-groupe comportant le plus grand nombre de lymphocytes (>14) présentait une survie globale plus élevée, avec une médiane de 32 mois contre 15,5 mois pour le sous-groupe de faible densité lymphocytaire. (P=0,0206) [Tableau 9 et figure 12 A].

Nous avons donc dans un deuxième temps étudié différentes populations de lymphocytes T.

Le sous-groupe de patientes avec l'infiltrat lymphocytaire CD8<sup>+</sup> le plus abondant (> 9,4) avait une survie globale significativement plus longue (survie globale médiane de 36,5 mois contre 19 mois) (P=0,0064) [Tableau 9 et figure 12 B].

L'analyse de l'expression de CD4 en immunohistochimie n'a pas pu être réalisée de façon fiable, la technique ne montrant qu'un marquage de faible intensité et obscurci par le marquage des macrophages, assez nombreux dans les tissus après la lyse

tumorale induite par la chimiothérapie. Nous avons donc utilisé le rapport entre le nombre de lymphocytes CD3 et de lymphocytes CD8 (tous deux significativement associés à la survie globale), pour indirectement évaluer le rôle des lymphocytes CD4 dans l'évolution des patientes (en supposant que la très grande majorité de l'infiltrat CD3<sup>+</sup> / CD8<sup>-</sup> correspond à des lymphocytes CD4). Il a de plus été démontré dans la littérature que le rapport CD4/CD8 a une valeur pronostique dans les carcinomes ovariens étudiés avant chimiothérapie, mais pas le nombre absolu de CD4, ce qui semblait en faveur d'une action modulatrice des lymphocytes CD4 sur les lymphocytes CD8 [42]. Dans notre groupe de patientes, le rapport CD8/CD3 ne présente pas de valeur pronostique (hazard ratio = P=0,9718) [Tableau 9 et figure 12 C].

De la même façon, l'infiltrat intra-tumoral de la sous-population de lymphocytes T exprimant FoxP3 n'est pas associé à la survie (P=0,4175 en utilisant la médiane pour distinguer les deux sous-groupes ; P=0,5603 en utilisant le premier tertile pour distinguer les deux sous-groupes). Il en est de même pour le rapport CD8/FoxP3 (P=0,5060) [Tableau 9 et figure 13 G,H].

La présence (contre l'absence) d'un infiltrat intra-tumoral CD20+ a une valeur pronostique, avec une survie globale de 37,5 mois contre 22 mois (P=0,0193) [Tableau 9 et figure 13 I].

	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < médiane	Infiltrat lymphocytaire > médiane			
CD3	15,5	32	0,3463	0,1045 - 1,1479	<b>0,0206</b>
CD8	19	36,5	0,2960	0,09252 - 0,9469	<b>0,0064</b>
CD8/CD3	23	24	0,9823	0,3445 - 2,8006	0,9718
FoxP3	17,5	32	0,6635	0,2276 - 1,9339	0,4175
CD8/FoxP3	28,5	16	1,4024	0,4917 - 3,9996	0,5060

	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < 1 <sup>er</sup> tertile	Infiltrat lymphocytaire > 1 <sup>er</sup> tertile			
FoxP3	17,5	24	0,7394	0,2365 - 2,3121	0,5603

	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire présent	Infiltrat lymphocytaire absent			
CD20	37,5	22	0,3609	0,1102 - 1,1824	<b>0,0193</b>

**Tableau 9: Temps de survie globale cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test en fonction de l'infiltrat lymphocytaire.**

L'ensemble des critères étudiés n'a pas de valeur pronostique significative sur la survie sans récurrence [Tableau 10, figure 12 D, E, F et figure 13 J, K, L]

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < médiane	Infiltrat lymphocytaire > médiane			
CD3	12	10	0,7355	0,2548 - 2,1231	0,4854
CD8	10	12,5	0,5612	0,1947 - 1,6177	0,1885
CD8/CD3	12	10	1,1399	0,3989 - 3,2573	0,7848
FoxP3	12	10,5	0,6211	0,1850 - 2,0852	0,3492
CD8/FoxP3	11,5	10	1,2645	0,4260 - 3,7538	0,6359

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < 1 <sup>er</sup> tertile	Infiltrat lymphocytaire > 1 <sup>er</sup> tertile			
FoxP3	10	11,5	0,6211	0,1850 - 2,0852	0,3492

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire présent	Infiltrat lymphocytaire absent			
CD20	12	11	0,5629	0,1890 - 1,6762	0,1984

**Tableau 10 : Temps de survie sans récurrence cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test en fonction de l'infiltrat lymphocytaire.**

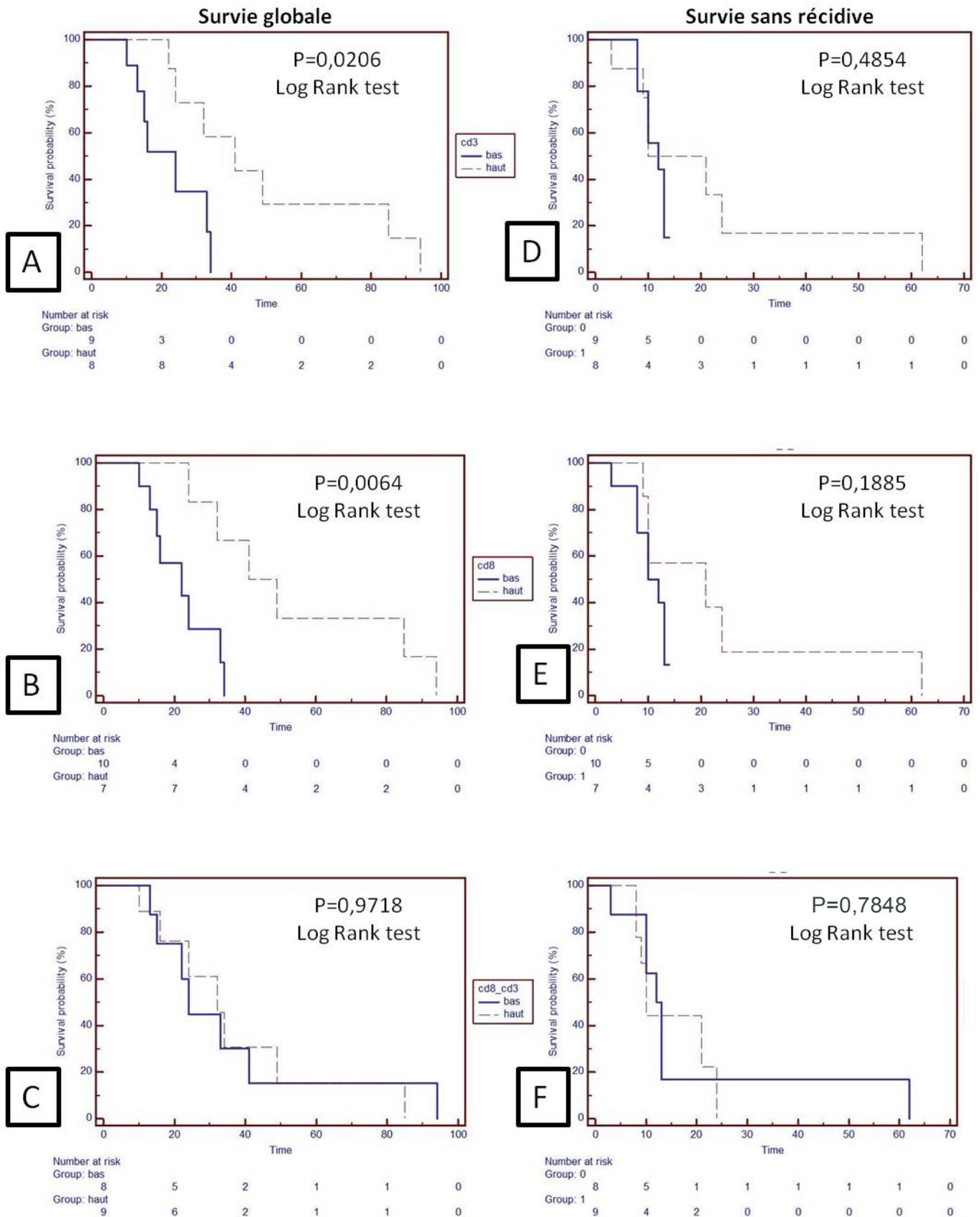


Figure 12 : Temps de survie cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test. Colonne de gauche pour la survie globale et colonne de droite pour la survie sans récidence (CD3 : A et D ; CD8 : B et E ; CD8/CD3 : C et F)

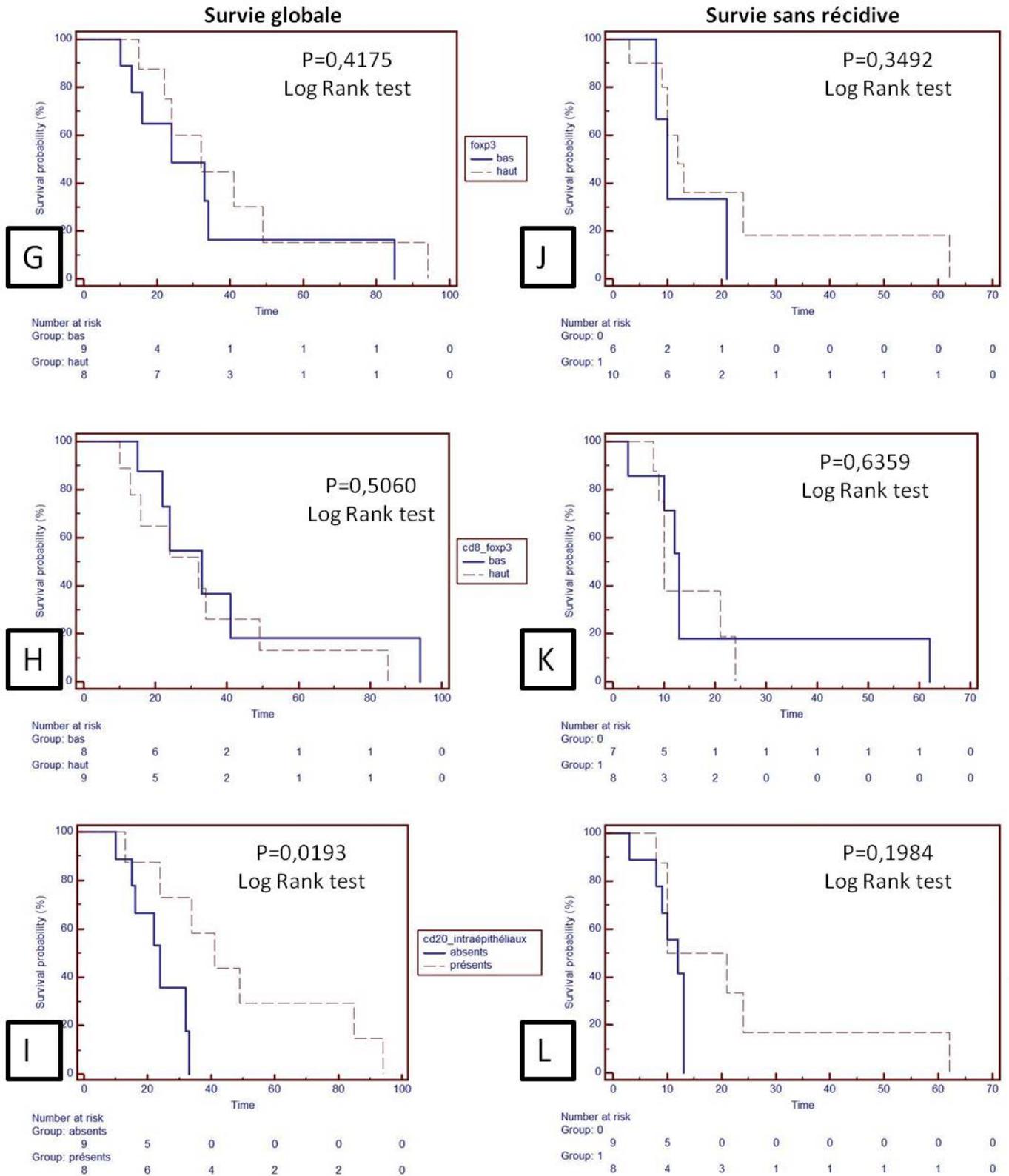


Figure 13 : Temps de survie cumulé calculé par méthode de Kaplan-Meier et analysé par log-rank test. Colonne de gauche pour la survie globale et colonne de droite pour la survie sans récurrence (FoxP3 : G et J ; CD8/FoxP3 : H et K ; CD20 : I et L)

## F. ÉVALUATION PRONOSTIQUE DE L'INFILTRAT LYMPHOCYTAIRE INTRA-TUMORAL AVANT CHIMIOTHÉRAPIE SUR BIOPSIE

Dans notre étude, les blocs d'inclusion en paraffine de la biopsie et de la pièce opératoire étaient disponibles pour 16 patientes. Dans un premier temps, nous avons calculé la corrélation entre les infiltrats T CD3+, T CD8 + et T FoxP3 + sur biopsies et pièces opératoires. Nous trouvons des coefficients de corrélation  $r$  faibles, et même négatif pour FoxP3, respectivement de  $r=0,1095$  (intervalle de confiance à 95% = 0,4084 à 0,5741,  $P=0,6863$ ),  $r=0,2517$  (intervalle de confiance à 95% = 0,2788 à 0,6645,  $P=0,3469$ ),  $r=-0,2122$  (intervalle de confiance à 95% = - 0,6405 à 0,3168,  $P= 0,4301$ ). Il n'y a donc pas de corrélation significative entre l'importance des infiltrats lymphocytaires sur biopsies et pièces [Figure 14].

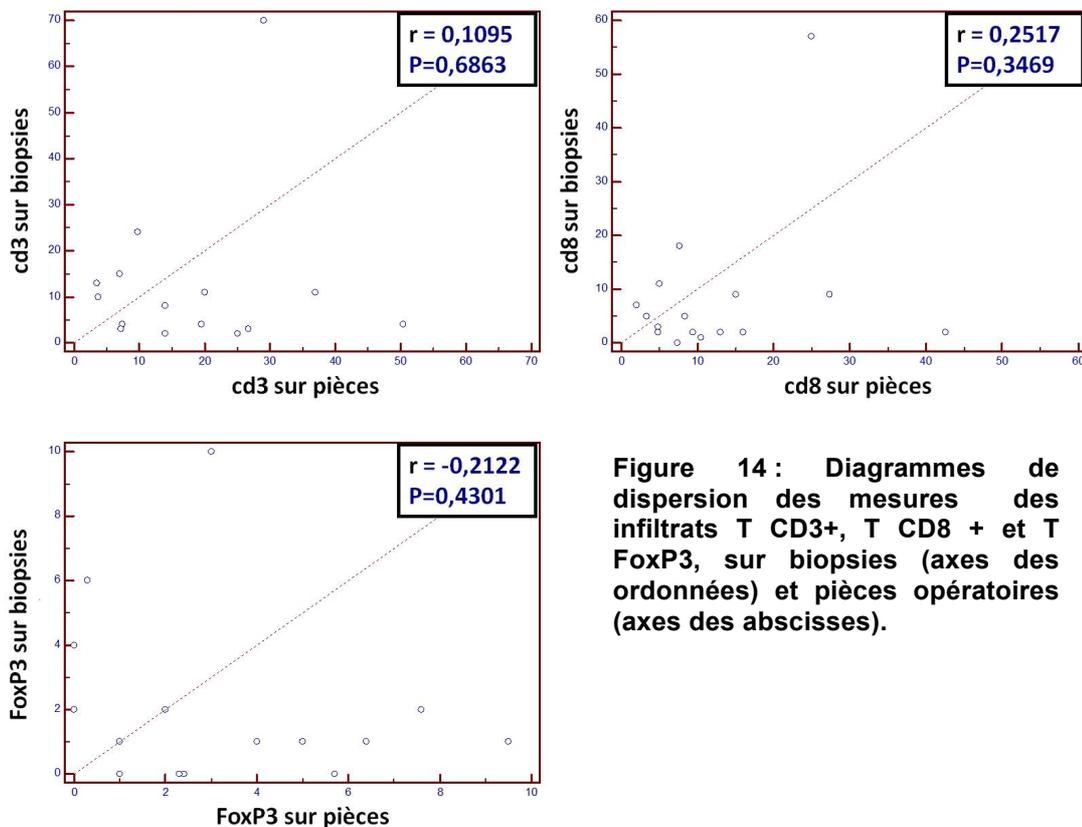


Figure 14 : Diagrammes de dispersion des mesures des infiltrats T CD3+, T CD8 + et T FoxP3, sur biopsies (axes des ordonnées) et pièces opératoires (axes des abscisses).

Etant donnée l'absence de corrélation entre les deux données, deux hypothèses sont possibles:

- La chimiothérapie induit des modifications de l'infiltrat lymphocytaire
- La représentativité des biopsies est insuffisante pour caractériser de façon fiable l'infiltrat lymphocytaire.

Pour étayer ces hypothèses, nous avons dans un second temps évalué les valeurs pronostiques des différents types d'infiltrat lymphocytaire sur les biopsies. En effet, de grandes séries ont déjà été réalisées sur des tumeurs ovariennes, ce qui nous permet de confronter les résultats de notre série de biopsies aux données de la littérature.

Nous n'avons pas démontré de valeur pronostique aux infiltrats T CD3+, TCD8+ et T FoxP3 à la fois sur la survie globale et la survie sans récurrence [tableau 11]. Paradoxalement, des infiltrats T CD3+ et T CD8+ faibles étaient associés à une augmentation (non significative) de la survie.

	Survie globale médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < médiane	Infiltrat lymphocytaire > médiane			
CD3	24	22,5	1,0458	0,3520 - 3,1069	0,9309
CD8	24	22,5	1,0458	0,3520 - 3,1069	0,9309
FoxP3	24,5	23,5	1,5089	0,5085 - 4,4776	0,4303

	Survie sans récurrence médiane, mois		Hazard ratio	Intervalle de confiance à 95%	P
	Infiltrat lymphocytaire < médiane	Infiltrat lymphocytaire > médiane			
CD3	12	11	1,4208	0,4765 - 4,2365	0,4845
CD8	12	11	1,4208	0,4765 - 4,2365	0,4845
FoxP3	13	10,5	1,5884	0,5355 - 4,7111	0,3591

**Tableau 11 : Temps de survies globale et sans récurrence cumulés calculés par méthode de Kaplan-Meier et analysés par log-rank test en fonction de l'infiltrat lymphocytaire mesuré sur les biopsies avant chimiothérapie.**

# DISCUSSION

**Dans notre étude, nous avons tenté de rechercher des critères histopronostiques significativement corrélés à la survie après chimiothérapie néoadjuvante dans les carcinomes séreux de haut grade de stades évolués.** Cette stratégie thérapeutique permet de diminuer la morbi-mortalité per et post-opératoire dans la prise en charge de ces cancers, sans diminuer la survie globale des patientes [31]. Elle tend à se développer, ce qui est reflété dans la recherche rétrospective que nous avons réalisée dans notre laboratoire, le nombre de patientes avec ce type de prise en charge augmentant nettement les toutes dernières années.

En nous inspirant de **grades de régression tumorale** validés et utilisés en pratique courante dans d'autres organes (œsophage, rectum et sein en particulier), nous avons retenu les critères les plus fiables possibles. Nous n'avons pas montré de valeur pronostique significative sur la survie globale et sans récurrence pour notre grade de régression tumorale, à l'inverse des classifications utilisées en pratique courante dans les cancers de l'œsophage [35] et du rectum [36].

**Nous avons d'abord été confrontés à des difficultés d'évaluation de la régression globale des lésions.** La prise en charge des carcinomes ovariens a la particularité de donner une place centrale à la chirurgie dans des tumeurs évoluées et métastatiques [4]. Les carcinomes œsophagiens et rectaux sont le plus souvent pris en charge avec un volume tumoral plus faible et sont souvent plus localisés. Il est ainsi plus simple d'évaluer sur une pièce le volume tumoral initial et donc d'évaluer le pourcentage de régression. De plus, on dispose des repères anatomiques (muqueuse, sous-muqueuse, musculuse et adventice) qui aident à

la caractérisation des signes de régression tumorale du fait de la désorganisation architecturale induite. Dans notre étude, nous ne bénéficions pas de ces repères. Ils ne sont en effet pas présents au sein de l'ovaire et du tissu fibro-adipeux péritonéal, principaux sièges des métastases. Par exemple, l'atteinte péritonéale, volontiers multifocale, se caractérise plutôt par une extension à la surface péritonéale sans importante invasion en profondeur. De ce fait, en cas de régression tumorale, il n'est pas toujours visualisé d'importantes lésions de fibrose et l'on n'observe pas de dissociation de repères anatomiques facilement indentifiables, comme des organes de voisinage infiltrés [39]. Enfin, la multiplicité des prélèvements effectués lors d'une chirurgie ovarienne rend difficile l'appréciation globale du pourcentage de régression tumorale.

**La caractérisation de critères de régression tumorale spécifiques est le deuxième écueil auquel on a dû faire face lors de notre étude.** Les rares études de la régression tumorale post-chimiothérapie dans les carcinomes ovariens ont obtenu des résultats contradictoires. Le *et al* [37] ont montré que la présence d'importants signes de régression tumorale histologique était corrélée à une survie prolongée. Ces auteurs ont utilisé comme critères de régression la présence d'un infiltrat macrophagique, de nécrose, de fibrose et d'une inflammation tumorale. En accord avec nos résultats, deux autres études [38, 39] ne trouvent pas de valeur pronostique significative à la régression histologique après chimiothérapie. Ferron *et al* [38] utilisent comme critères de régression la présence de nécrose et l'évaluation de la prolifération. On voit que le choix de différents critères histopathologiques de régression peut avoir provoqué les résultats hétérogènes des différentes études. Sassen *et al* [39] ont évalué de façon systématique de potentiels critères

histopathologiques de régression, en comparant une série de tumeurs sans chimiothérapie à une série de tumeurs après chimiothérapie. Le mode d'infiltration tumorale (en larges massifs pour les tumeurs sans chimiothérapie, en petits amas dispersés pour les tumeurs après chimiothérapie), l'importance de la fibrose, la présence de macrophages spumeux ou de cellules géantes résorptives étaient les critères les plus fiables en faveur de signes de régression post-chimiothérapie, avec des spécificités respectives de 100 ; 85,7 ; 80 et 97,1%. La sensibilité de ces critères histologiques était plutôt faible puisqu'elle variait de 18,4% (pour la présence de cellules géantes) à 63,3% (pour la fibrose). D'autres critères étaient moins spécifiques (nécrose, inflammation, hemosidérine). La nécrose était plus souvent présente avant chimiothérapie (94,3% des cas alors qu'après chimiothérapie 67,3% des cas), et apparaissait plutôt corrélée au volume tumoral. Dans notre étude, nous avons tendance à confirmer ces données car nous avons observé des lésions de nécrose tumorale sur 7 des 18 biopsies pré-thérapeutiques, soit 39% (qui sont pourtant des prélèvements de petite taille). Or, Le *et al* [37] et Ferron *et al* [38] utilisaient ce critère comme signe de régression tumorale post-chimiothérapie.

La régression tumorale est un processus dynamique et les signes histologiques tendent à progressivement disparaître lorsque la tumeur est en involution importante, ne laissant place qu'à une cicatrice fibreuse de petite taille [39]. Il est donc important, si possible, d'évaluer la taille du reliquat tumoral et son degré d'involution par rapport à la taille initiale avant chimiothérapie, en corrélation avec les signes de régression, comme ce qui est réalisé dans des classifications validées pour d'autres organes (l'oesophage par exemple). En pathologie ovarienne, étant donné que l'on peut difficilement connaître précisément la taille de la lésion

avant chimiothérapie, on doit se contenter d'une évaluation du rapport tumeur résiduelle/signes de régression (comme ce que nous avons défini dans notre grade), ce qui peut minorer l'estimation de la régression tumorale dans les tumeurs en involution extensive (forte diminution de la tumeur mais également des signes de régression).

L'étude de Ferron *et al* [38] utilise de plus comme second critère l'index mitotique. Cela nous a semblé opportun et complémentaire de l'étude de la régression. En effet, **l'évaluation de la prolifération tumorale** pourrait être un signe de « vitalité tumorale » persistante (contre un signe de « mort tumorale » pour la régression). Nous avons testé deux méthodes d'évaluation de la prolifération tumorale: le compte mitotique et l'index ki67. De façon surprenante, alors qu'il s'agit de mêmes régions tumorales sur les mêmes lames qui ont été mesurées, nous ne trouvons pas de corrélation « tout à fait significative » entre ces deux méthodes ( $p=0,0718$  par test de Pearson). Cela peut être lié d'une part au fait que le compte mitotique s'effectue sur une surface donnée ( $0,30 \text{ mm}^2$ ) alors que l'index ki67 est mesuré sur un nombre donné de cellules (et exprimé en pourcentage). Nous sommes donc tributaires de la densité cellulaire pour une analyse fiable de l'index mitotique, en particulier pour les tumeurs ayant fortement régressé qui sont de faible densité cellulaire. Comme on s'affranchit de cet obstacle pour l'évaluation de l'index ki67, on pourrait en attendre une meilleure valeur pronostique. Ce n'est pas le cas dans notre étude, car, bien que non significative, la différence de survie globale entre les groupes compte mitotique bas / compte mitotique élevé (33 mois contre 19 mois,  $p=0,1632$ ) est plus importante qu'entre les groupes index ki67 faible / index ki67 élevé (24 contre 21 mois,  $p=0,9128$ ). Une évaluation semi-quantitative de

l'index ki67 n'apparaît pas satisfaisante, et, à l'instar du compte mitotique, un compte précis doit être préconisé [65].

**Plusieurs études ont montré que la présence de lymphocytes T intra-tumoraux était associée à un meilleur pronostic dans les cancers ovariens [40, 43, 66]. D'autres études suggèrent que, plus que le nombre de lymphocytes T (définis par l'expression de CD3), le type des lymphocytes T CD8+ ou CD4+ intra-tumoraux serait encore plus déterminant pour le pronostic.**

La fonction des lymphocytes T CD4+ et CD8+ est médiée par l'expression de leurs récepteurs CD4 et CD8. Le récepteur des cellules T (TCR) des lymphocytes CD8+ est restreint à la reconnaissance des antigènes présentés par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I à la différence des lymphocytes CD4+ qui eux reconnaissent les antigènes associés au CMH de classe II. La plupart des tumeurs comportant le CMH de classe I et non le CMH de classe II, les études sur la réponse immunitaire anti-tumorale ont été initialement portées aux lymphocytes T CD8+ cytotoxiques, capables de reconnaître directement les antigènes tumoraux associés au CMH de classe I et d'induire une réponse anti-tumorale. Les lymphocytes T CD4+ présentent eux une capacité limitée de reconnaissance directe des antigènes tumoraux et leur rôle est souvent d'interagir avec les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques et de moduler leur activité [67]. Ainsi, plus récemment, plusieurs équipes ont suggéré qu'une partie de ces lymphocytes T CD4+, les lymphocytes T régulateurs (T reg), T CD4+ CD25+ FoxP3 +, diminuerait la capacité de l'hôte à se défendre contre les cellules tumorales [42, 53, 67] en modulant la réponse immunitaire T CD8+. Les lymphocytes « anti-tumoraux » migrant vers le site tumoral seraient inhibés par ce mécanisme, la tumeur créant une sorte

d'environnement immunosuppresseur pour promouvoir sa croissance [67]. En théorie, la présence de lymphocytes T CD8+ serait bénéfique alors que celle de lymphocytes Treg serait défavorable au pronostic. Les lymphocytes T CD3+ étant nettement majoritairement de type CD8 dans l'infiltrat intra-tumoral, une action bénéfique est aussi théoriquement attendue [42].

**Plusieurs études ont montré que la présence de lymphocytes T CD3+ intra-tumoraux était associée à un meilleur pronostic dans les cancers ovariens sans chimiothérapie [40, 43, 66].** L'équipe de Sato [42] a davantage typé l'infiltrat lymphocytaire intra-épithélial T au sein des carcinomes ovariens. Ils ont montré que la présence de lymphocytes intra-épithéliaux T CD8+ était associée à un meilleur pronostic. Cette donnée a été confirmée dans d'autres études, dans l'ovaire [43, 68] et d'autres organes comme le colon [41, 64], le sein [44] ou le poumon [45]. **L'originalité de notre étude est de montrer que la présence d'un infiltrat intra-épithélial T CD3+ et T CD8+ est associée à une survie prolongée des patientes suivies pour carcinome séreux de haut grade à un stade avancé traitées par chimiothérapie néoadjuvante.** Leur quantification après chimiothérapie reste donc pertinente pour le pronostic des patientes et pourrait avoir une valeur prédictive si des traitements immunomodulateurs anti-tumoraux se développaient.

**Les résultats concernant la valeur pronostique de l'infiltrat intra-tumoral Treg sont très discordants dans la littérature.** Dans notre série, nous n'avons pas démontré de valeur pronostique à la présence de Treg, ce qui est corroboré par l'unique autre étude s'intéressant aux carcinomes ovariens après chimiothérapie [63], ainsi que par une série consécutive de carcinomes ovariens étudiés avant chimiothérapie [42]. Par contre, d'autres études lui ont conféré une

valeur pronostique défavorable dans des carcinomes ovariens [53], des carcinomes colorectaux [62], ORL [69] ou des hépatocarcinomes [70]. De façon paradoxale, dans une étude, l'infiltrat Treg est associé à un pronostic favorable dans des carcinomes ovariens [71].

Il est probable que les grandes discordances recensées soient liées à l'absence d'uniformité des critères de définition des Treg dans les différentes études. Leur phénotype le plus complet est: CD3+ CD4+ CD25+ FoxP3+. Curiel *et al* ont qualifié de lymphocytes T régulateurs les lymphocytes T CD4+ CD25+. Or, le CD25 (sous-unité alpha du récepteur de l'interleukine 2) est aussi exprimé par les lymphocytes T activés, non régulateurs [42]. L'expression de FoxP3 est retenue comme critère de définition des Treg dans la majorité des études [69, 62, 63, 70]. Or, Dans la littérature, il est décrit la possible expression de FoxP3 par des lymphocytes T non régulateurs [49, 67]. Le phénotypage le plus complet semble donc être un double marquage FoxP3/CD25, retenu uniquement par Sato *et al*, qui n'ont pas trouvé de valeur pronostique à l'infiltrat tumoral Treg dans les carcinomes ovariens.

Nous observons une valeur pronostique favorable de l'infiltrat CD20+ dans notre série. Très peu d'études sont disponibles concernant l'immunité humorale et son action anti-tumorale. Sur de petites séries [72], nos résultats semblent confirmés pour la valeur pronostique des lymphocytes B sans que les mécanismes immunologiques sous-jacents ne soient clairement établis.

Contrairement à ce qui est observé sur les pièces opératoires après chimiothérapie, **l'infiltrat inflammatoire CD3 et CD8 sur biopsie pré-chimiothérapie n'avait pas de valeur pronostique. De plus, il n'était pas corrélé à celui observé sur les pièces opératoires. Nous pensons que la petite taille du prélèvement biopsique ne permet pas une évaluation fiable de l'inflammation.** En effet, les infiltrats CD3 et/ou CD8 étudiés sur de grandes séries, significativement associés au pronostic, étaient évalués sur des pièces opératoires [40,42]. Une seule étude a comparé l'infiltrat lymphocytaire avant (sur biopsie) et après (sur pièce) chimiothérapie dans les cancers de l'ovaire [63]. Les auteurs ne trouvent un effet significatif de l'infiltrat sur le pronostic que sur pièces opératoires. Cependant, ils retiennent l'hypothèse que la chimiothérapie induit des modifications immunitaires, favorisant la réaction anti-tumorale.

Peu de données bibliographiques sont à ce jour disponibles concernant l'effet de la chimiothérapie néoadjuvante sur l'inflammation anti-tumorale. Demaria *et al* [73] ont suggéré que l'apoptose induite par le paclitaxel au sein de carcinomes mammaires traités par chimiothérapie néoadjuvante pouvait augmenter l'immunogénicité tumorale en fournissant aux cellules dendritiques des antigènes tumoraux à présenter aux lymphocytes. Ils montraient par ailleurs que les carcinomes associés à une meilleure réponse histologique à la chimiothérapie étaient plus souvent siège de lymphocytes intra-tumoraux. Le paclitaxel donné à intervalles réguliers agirait aussi sur la vascularisation tumorale et faciliterait la distribution du traitement et des lymphocytes T [74].

Ladoire *et al* [75] ont montré qu'une réponse histologique complète à la chimiothérapie néoadjuvante (à base d'anthracyclines +/- trastuzumab) au sein de carcinomes mammaires était associée à une disparition des Treg alors que les Treg restaient nombreux au sein des carcinomes des sujets non répondeurs. Les lymphocytes intra-épithéliaux T CD3+ et T CD8+ étaient stables en nombre comparés à l'infiltrat pré-thérapeutique. Ainsi, le rapport CD8/FoxP3 était augmenté après chimiothérapie chez les sujets avec excellente réponse histologique. Ils concluaient à l'induction par la chimiothérapie d'une réponse immune anti-tumorale participant à l'efficacité de la chimiothérapie. En 2011, cette même équipe a montré qu'un infiltrat lymphocytaire T CD8+ important et un rapport CD8/FoxP3 favorable (CD8 haut, FoxP3 bas) en post-chimiothérapie étaient corrélés à une survie prolongée.

**Une des forces de notre étude est d'avoir constitué un groupe homogène de patientes:** étude unicentrique portant sur un type histologique (carcinome séreux de haut grade), avec une prise en charge constante (une équipe chirurgicale et un protocole de chimiothérapie commun à toutes les patientes). Ainsi, en se focalisant sur les carcinomes séreux de haut grade, nous trouvons une signification pronostique à l'infiltrat T CD3+, comme Clarke *et al* (2009) qui, par ailleurs, ne confirment pas ce résultat pour les autres types histologiques. Sato *et al* [42], en travaillant sur des carcinomes de types histologiques et de grades différents, ne démontrent pas de valeur pronostique à l'infiltrat T CD3+.

**La rançon d'établir un groupe homogène de patientes atteintes d'un carcinome relativement peu fréquent et bénéficiant d'un nouveau type de prise en charge est d'aboutir à un recrutement faible.** Nous devons confirmer

nos résultats en élargissant notre recrutement. De plus, pour une éventuelle application en pratique courante, seules de larges séries pourront établir les seuils quantitatifs de l'infiltrat lymphocytaire permettant de distinguer les groupes à risque des groupes à pronostic favorable [44].

# CONCLUSION

Des stratégies thérapeutiques basées sur une chimiothérapie néoadjuvante ont récemment été validées dans les carcinomes ovariens à un stade avancé. Elles permettent de réduire la morbi-mortalité péri-opératoire et d'optimiser la résection chirurgicale.

Dans notre étude, la régression tumorale histologique après chimiothérapie et le niveau de prolifération ne sont pas corrélés à la survie selon les critères que nous avons déterminés. Le caractère multifocal des lésions carcinomateuses ainsi que la difficulté à appréhender le volume tumoral avant chimiothérapie (absence de repère anatomique au sein des organes cibles et caractère dynamique du processus de régression) font obstacle à l'établissement d'un score de régression tumorale histologique.

Nous avons montré que la présence d'un infiltrat lymphocytaire intra-tumoral T CD3+ et T CD8+ conserve une valeur pronostique après chimiothérapie néoadjuvante puisque la survie des patientes est prolongée lorsque l'infiltrat lymphocytaire intra-épithélial est plus dense. L'étude de l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral sur pièces d'exérèse après chimiothérapie pourrait permettre de fournir des informations pronostiques et éventuellement prédictives dans les carcinomes séreux de haut grade. Cette valeur pronostique de l'infiltrat lymphocytaire n'a pas été observée sur les biopsies pré-thérapeutiques, la représentativité des biopsies semblant insuffisante pour une étude fiable de l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral.

Ces résultats sont cependant préliminaires car nécessitent d'être confirmés sur une plus grande série de patientes en élargissant notre recrutement.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Hennessy BT, Coleman RL, Markman M. Ovarian cancer. *Lancet*. 2009 Oct 17;374(9698):1371-82. Epub 2009 Sep 28.
2. Burke W, Daly M, Garber J, Botkin J, Kahn MJ, Lynch P, McTiernan A, Offit K, Perlman J, Petersen G, Thomson E, Varricchio C. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II. BRCA1 and BRCA2. Cancer Genetics Studies Consortium. *JAMA*. 1997 Mar 26;277(12):997-1003.
3. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, Narod SA, Van't Veer L, Garber JE, Evans G, Isaacs C, Daly MB, Matloff E, Olopade OI, Weber BL; Prevention and Observation of Surgical End Points Study Group. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med*. 2002 May 23;346(21):1616-22. Epub 2002 May 20.
4. Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med*. 2004 Dec 9;351(24):2519-29.
5. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, Ryan A, Burnell M, Sharma A, Lewis S, Davies S, Philpott S, Lopes A, Godfrey K, Oram D, Herod J, Williamson K, Seif MW, Scott I, Mould T, Woolas R, Murdoch J, Dobbs S, Amso NN, Leeson S, Cruickshank D, McGuire A, Campbell S, Fallowfield L, Singh N, Dawney A, Skates SJ, Parmar M, Jacobs I. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol*. 2009 Apr;10(4):327-40. Epub 2009 Mar 11.
6. Rustin GJ, van der Burg ME, Griffin CL, Guthrie D, Lamont A, Jayson GC, Kristensen G, Mediola C, Coens C, Qian W, Parmar MK, Swart AM; MRC OV05; EORTC 55955 investigators. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *Lancet*. 2010 Oct 2;376(9747):1155-63.
7. Lee, Tavassoli, Prat *et al*. Tumours of the Ovary and Peritoneum. In : Tavassoli F.A., Devilee P. (Eds) : World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press : Lyon 2003. p116.
8. Cho KR, Shih IeM. Ovarian cancer. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:287-313.
9. Seidman JD, Cho KR, Ronnett BM, Kurman RJ. Surface Epithelial Tumours of the Ovary. In : Robert J. Kurman, Lora Hedrick Ellenson, Brigitte M. Ronnett. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 2011, sixth edition. 2011. p686.
10. Classification and staging of malignant tumours in the female pelvis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1971;50(1):1-7.

11. Shimizu Y, Kamoi S, Amada S, Akiyama F, Silverberg SG. Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma: testing of a proposed system in a series of 461 patients with uniform treatment and follow-up. *Cancer*. 1998 Mar 1;82(5):893-901.
12. Malpica A, Deavers MT, Lu K, Bodurka DC, Atkinson EN, Gershenson DM, Silva EG.
13. Seidman JD, Cho KR, Ronnett BM, Kurman RJ. Surface Epithelial Tumours of the Ovary. In : Robert J. Kurman, Lora Hedrick Ellenson, Brigitte M. Ronnett. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 2011, sixth edition. 2011. p746.
14. Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*. 2004 May;164(5):1511-8.
15. Kurman RJ, Shih IeM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010 Mar;34(3):433-43.
16. Kurman RJ, Shih IeM. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm. *Hum Pathol*. 2011 Jul;42(7):918-31.
17. Dubeau L. *Lancet Oncol*. 2008 Dec;9(12):1191-7. The cell of origin of ovarian epithelial tumours.
18. Cheng W, Liu J, Yoshida H, Rosen D, Naora H. Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract. *Nat Med*. 2005 May;11(5):531-7. Epub 2005 Apr 10.
19. Medeiros F, Muto MG, Lee Y, Elvin JA, Callahan MJ, Feltmate C, Garber JE, Cramer DW, Crum CP. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2006 Feb;30(2):230-6.
20. Callahan MJ, Crum CP, Medeiros F, Kindelberger DW, Elvin JA, Garber JE, Feltmate CM, Berkowitz RS, Muto MG. Primary fallopian tube malignancies in BRCA-positive women undergoing surgery for ovarian cancer risk reduction. *J Clin Oncol*. 2007 Sep 1;25(25):3985-90.
21. Kindelberger DW, Lee Y, Miron A, Hirsch MS, Feltmate C, Medeiros F, Callahan MJ, Garner EO, Gordon RW, Birch C, Berkowitz RS, Muto MG, Crum CP. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol*. 2007 Feb;31(2):161-9.
22. Seidman JD, Cho KR, Ronnett BM, Kurman RJ. Surface Epithelial Tumours of the Ovary. In : Robert J. Kurman, Lora Hedrick Ellenson, Brigitte M. Ronnett. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 2011, sixth edition. 2011. p689.
23. Rosenblatt KA, Thomas DB. Reduced risk of ovarian cancer in women with a tubal ligation or hysterectomy. The World Health Organization Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1996 Nov;5(11):933-5.

24. Young RC, Decker DG, Wharton JT, Piver MS, Sindelar WF, Edwards BK, Smith JP. Staging laparotomy in early ovarian cancer. *JAMA*. 1983 Dec 9;250(22):3072-6.
25. Eisenkop SM, Spirtos NM. What are the current surgical objectives, strategies, and technical capabilities of gynecologic oncologists treating advanced epithelial ovarian cancer? *Gynecol Oncol*. 2001 Sep;82(3):489-97.
26. Chi DS, Eisenhauer EL, Lang J, Huh J, Haddad L, Abu-Rustum NR, Sonoda Y, Levine DA, Hensley M, Barakat RR. What is the optimal goal of primary cytoreductive surgery for bulky stage IIIC epithelial ovarian carcinoma (EOC)? *Gynecol Oncol*. 2006 Nov;103(2):559-64. Epub 2006 May 22.
27. Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble EL, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2002 Mar 1;20(5):1248-59.
28. Vincens E, Lauratet B, Lefranc JP. [Classification and morbidity of debulking surgery for advanced ovarian cancer]. *Bull Cancer*. 2010 Jan;97(1):73-7.
29. Ansquer Y, Leblanc E, Clough K, Morice P, Dauplat J, Mathevet P, Lhommé C, Scherer C, Tigaud JD, Benchaib M, Fourme E, Castaigne D, Querleu D, Dargent D. Neoadjuvant chemotherapy for unresectable ovarian carcinoma: a French multicenter study. *Cancer*. 2001 Jun 15;91(12):2329-34.
30. Rauh-Hain JA, Rodriguez N, Growdon WB, Goodman AK, Boruta DM 2nd, Horowitz NS, del Carmen MG, Schorge JO. Primary debulking surgery versus neoadjuvant chemotherapy in stage IV ovarian cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012 Mar;19(3):959-65. Epub 2011 Oct 13.
31. Vergote I, Tropé CG, Amant F, Kristensen GB, Ehlen T, Johnson N, Verheijen RH, van der Burg ME, Lacave AJ, Panici PB, Kenter GG, Casado A, Mendiola C, Coens C, Verleye L, Stuart GC, Pecorelli S, Reed NS; European Organization for Research and Treatment of Cancer-Gynaecological Cancer Group; NCIC Clinical Trials Group. Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2010 Sep 2;363(10):943-53.
32. McCluggage WG, Lyness RW, Atkinson RJ, Dobbs SP, Harley I, McClelland HR, Price JH. Morphological effects of chemotherapy on ovarian carcinoma. *J Clin Pathol*. 2002 Jan;55(1):27-31.
33. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Chollet P, Hurteloup P. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol*. 1993 Jun;16(3):223-8.
34. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg*. 1995 Mar;180(3):297-306.

35. Mandard AM, Dalibard F, Mandard JC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JF, Roussel A, Jacob JH, Segol P, Samama G, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer*. 1994 Jun 1;73(11):2680-6.
36. Rödel C, Martus P, Papadopoulos T, Füzesi L, Klimpfing M, Fietkau R, Liersch T, Hohenberger W, Raab R, Sauer R, Wittekind C. Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Dec 1;23(34):8688-96. Epub 2005 Oct 24.
37. Le T, Williams K, Senterman M, Hopkins L, Faught W, Fung-Kee-Fung M. Histopathologic assessment of chemotherapy effects in epithelial ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and delayed primary surgical debulking. *Gynecol Oncol*. 2007 Jul;106(1):160-3. Epub 2007 May 9.
38. Ferron JG, Uzan C, Rey A, Gouy S, Pautier P, Lhommé C, Duvillard P, Morice P. Histological response is not a prognostic factor after neoadjuvant chemotherapy in advanced-stage ovarian cancer with no residual disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009 Nov;147(1):101-5. Epub 2009 Sep 8.
39. Sassen S, Schmalfeldt B, Avril N, Kuhn W, Busch R, Höfler H, Fend F, Nährig J. Histopathologic assessment of tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in advanced-stage ovarian cancer. *Hum Pathol*. 2007 Jun;38(6):926-34. Epub 2007 Mar 30.
40. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, Makrigiannakis A, Gray H, Schlienger K, Liebman MN, Rubin SC, Coukos G. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2003 Jan 16;348(3):203-13.
41. Pagès F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Asslaber M, Tosolini M, Bindea G, Lagorce C, Wind P, Marliot F, Bruneval P, Zatloukal K, Trajanoski Z, Berger A, Fridman WH, Galon J. In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Dec 10;27(35):5944-51. Epub 2009 Oct 26.
42. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, Jungbluth AA, Frosina D, Gnjjatic S, Ambrosone C, Kepner J, Odunsi T, Ritter G, Lele S, Chen YT, Ohtani H, Old LJ, Odunsi K. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Dec 20;102(51):18538-43. Epub 2005 Dec 12.
43. Clarke B, Tinker AV, Lee CH, Subramanian S, van de Rijn M, Turbin D, Kalloger S, Han G, Ceballos K, Cadungog MG, Huntsman DG, Coukos G, Gilks CB. Intraepithelial T cells and prognosis in ovarian carcinoma: novel associations with stage, tumor type, and BRCA1 loss. *Mod Pathol*. 2009 Mar;22(3):393-402. Epub 2008 Dec 5.
44. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, Lee AH, Ellis IO, Green AR. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 May 20;29(15):1949-55. Epub 2011 Apr 11.

45. Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, Mizuno T, Aokage K, Saijo N, Nishiwaki Y, Gemma A, Kudoh S, Ochiai A. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2008 Sep 15;113(6):1387-95.
46. Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, van der Bruggen P, Van Pel A. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:337-65.
47. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*. 2000 May 26;101(5):455-8.
48. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol*. 2005 Apr;6(4):345-52.
49. Martin F, Ladoire S, Mignot G, Apetoh L, Ghiringhelli F. Human FOXP3 and cancer. *Oncogene*. 2010 Jul 22;29(29):4121-9. Epub 2010 May 24.
50. Bettelli E, Dastrange M, Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Apr 5;102(14):5138-43. Epub 2005 Mar 24.
51. Rudensky AY, Gavin M, Zheng Y. FOXP3 and NFAT: partners in tolerance. *Cell*. 2006 Jul 28;126(2):253-6.
52. Wu Y, Borde M, Heissmeyer V, Feuerer M, Lapan AD, Stroud JC, Bates DL, Guo L, Han A, Ziegler SF, Mathis D, Benoist C, Chen L, Rao A. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell*. 2006 Jul 28;126(2):375-87.
53. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*. 2004 Sep;10(9):942-9. Epub 2004 Aug 22.
54. Walker MR, Carson BD, Nepom GT, Ziegler SF, Buckner JH. De novo generation of antigen-specific CD4+CD25+ regulatory T cells from human CD4+CD25- cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Mar 15;102(11):4103-8. Epub 2005 Mar 7.
55. Akbar AN, Vukmanovic-Stejic M, Taams LS, Macallan DC. The dynamic co-evolution of memory and regulatory CD4+ T cells in the periphery. *Nat Rev Immunol*. 2007 Mar;7(3):231-7.
56. Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2006 Apr;6(4):295-307.
57. Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD, Garcia JF, Harris AL, Banham AH. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J Clin Oncol*. 2006 Dec 1;24(34):5373-80.

58. Jordanova ES, Gorter A, Ayachi O, Prins F, Durrant LG, Kenter GG, van der Burg SH, Fleuren GJ. Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and CD8+/regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients? *Clin Cancer Res*. 2008 Apr 1;14(7):2028-35.
59. Gao Q, Qiu SJ, Fan J, Zhou J, Wang XY, Xiao YS, Xu Y, Li YW, Tang ZY. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol*. 2007 Jun 20;25(18):2586-93.
60. Mizukami Y, Kono K, Kawaguchi Y, Akaike H, Kamimura K, Sugai H, Fujii H. Localisation pattern of Foxp3+ regulatory T cells is associated with clinical behaviour in gastric cancer. *Br J Cancer*. 2008 Jan 15;98(1):148-53. Epub 2007 Dec 18.
61. Hiraoka N, Onozato K, Kosuge T, Hirohashi S. Prevalence of FOXP3+ regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions. *Clin Cancer Res*. 2006 Sep 15;12(18):5423-34.
62. Salama P, Phillips M, Grieu F, Morris M, Zeps N, Joseph D, Platell C, Iacopetta B. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 10;27(2):186-92. Epub 2008 Dec 8.
63. Pölcher M, Braun M, Friedrichs N, Rudlowski C, Bercht E, Fimmers R, Sauerwald A, Keyver-Paik MD, Kübler K, Büttner R, Kuhn WC, Hernando JJ. Foxp3(+) cell infiltration and granzyme B(+)/Foxp3(+) cell ratio are associated with outcome in neoadjuvant chemotherapy-treated ovarian carcinoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2010 Jun;59(6):909-19. Epub 2010 Jan 20.
64. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006 Sep 29;313(5795):1960-4.
65. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, Ellis M, Henry NL, Hugh JC, Lively T, McShane L, Paik S, Penault-Llorca F, Prudkin L, Regan M, Salter J, Sotiriou C, Smith IE, Viale G, Zujewski JA, Hayes DF; International Ki-67 in Breast Cancer Working Group. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst*. 2011 Nov 16;103(22):1656-64.
66. Tomsová M, Melichar B, Sedláková I, Steiner I. Prognostic significance of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2008 Feb;108(2):415-20. Epub 2007 Nov 26.

67. Yu P, Fu YX. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes? *Lab Invest.* 2006 Mar;86(3):231-45.
68. Stumpf M, Hasenburg A, Riener MO, Jütting U, Wang C, Shen Y, Orłowska-Volk M, Fisch P, Wang Z, Gitsch G, Werner M, Lassmann S. Intraepithelial CD8-positive T lymphocytes predict survival for patients with serous stage III ovarian carcinomas: relevance of clonal selection of T lymphocytes. *Br J Cancer.* 2009 Nov 3;101(9):1513-21. Epub 2009 Sep 29.
69. Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay Nel H, Mosseri V, Laccourreye O, Bruneval P, Fridman WH, Brasnu DF, Tartour E. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4+ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clin Cancer Res.* 2006 Jan 15;12(2):465-72.
70. Mathai AM, Kapadia MJ, Alexander J, Kernochan LE, Swanson PE, Yeh MM. Role of Foxp3-positive tumor-infiltrating lymphocytes in the histologic features and clinical outcomes of hepatocellular carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2012 Jul;36(7):980-6.
71. Leffers N, Gooden MJ, de Jong RA, Hoogeboom BN, ten Hoor KA, Hollema H, Boezen HM, van der Zee AG, Daemen T, Nijman HW. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2009 Mar;58(3):449-59. Epub 2008 Sep 13.
72. Pretscher D, Distel LV, Grabenbauer GG, Wittlinger M, Buettner M, Niedobitek G. Distribution of immune cells in head and neck cancer: CD8+ T-cells and CD20+ B-cells in metastatic lymph nodes are associated with favourable outcome in patients with oro- and hypopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer.* 2009 Aug 22;9:292.
73. Demaria S, Volm MD, Shapiro RL, Yee HT, Oratz R, Formenti SC, Muggia F, Symmans WF. Development of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2001 Oct;7(10):3025-30.
74. Emens LA. Chemotherapy and tumor immunity: an unexpected collaboration. *Front Biosci.* 2008 Jan 1;13:249-57.
75. Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, Coudert B, Martin F, Chauffert B, Fumoleau P, Ghiringhelli F. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating foxp3+ regulatory T cells. *Clin Cancer Res.* 2008 Apr 15;14(8):2413-20.

**AUTEUR:** DAUSSAY Dorothée  
**Date de soutenance :** 4 octobre 2012

**Titre:** Evaluation histopronostique de la régression tumorale, de la prolifération et de l'infiltrat lymphocytaire intra-épithélial dans les carcinomes séreux de haut grade ovariens après chimiothérapie néoadjuvante.

**Thèse, Médecine, Lille, 2012**

**Cadre de classement:** DES d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

**Mots-clés:** carcinome séreux de haut grade, chimiothérapie néo-adjuvante, régression tumorale, infiltrat lymphocytaire intra-tumoral.

**Résumé:**

Des stratégies thérapeutiques basées sur une chimiothérapie néoadjuvante ont récemment été validées dans les carcinomes ovariens à un stade avancé. Elles permettent de réduire la morbi-mortalité péri-opératoire et d'optimiser la résection chirurgicale.

Notre étude rétrospective (2003-2011) a porté sur l'ensemble des cas de carcinome séreux de haut grade découverts à un stade IIIc ou IV, traités par chimiothérapie néoadjuvante (Carboplatine et Taxol) puis chirurgie d'intervalle au CHRU de Lille.

Une relecture des lames (biopsies diagnostiques et pièces d'exérèse) a été effectuée afin d'évaluer la valeur pronostique de la présence de signes histologiques de régression tumorale (rapport tumeur/fibrose, histiocytes spumeux et pigments d'hemosidérine) et de prolifération cellulaire (index mitotique et index de prolifération du Ki67). Nous avons évalué et caractérisé par immunohistochimie l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral afin de déterminer son impact pronostique après chimiothérapie, une valeur pronostique sur la survie ayant été démontrée dans plusieurs séries de grande taille en cas de chirurgie première sur l'étude des pièces opératoires avant chimiothérapie.

Dans notre étude, la présence d'une régression tumorale histologique et le niveau de prolifération ne sont pas corrélés à la survie d'après les critères que nous avons déterminés, malgré l'optimisation de nos paramètres d'évaluation. Le caractère multifocal des lésions de carcinome séreux ainsi que la difficulté à appréhender le volume tumoral avant chimiothérapie du fait de l'absence de repère anatomique au sein des organes cibles (ovaire, péritoine) et du caractère dynamique du processus de régression, font obstacle à l'établissement d'un score de régression tumorale histologique.

Nous avons montré que la présence d'un infiltrat lymphocytaire intra-tumoral T CD3+ et T CD8+ conserve une valeur pronostique après chimiothérapie néoadjuvante puisque la survie des patientes est prolongée dans le cas d'un infiltrat lymphocytaire plus dense ( $p=0,02$  pour l'infiltrat T CD3+ et  $p=0,006$  pour l'infiltrat T CD8+). Cette valeur pronostique de l'infiltrat T CD3+ et T CD8+ n'est pas observée sur les biopsies avant chimiothérapie. D'après nos résultats et en les confrontant aux données de la littérature, la représentativité des biopsies semble insuffisante pour une étude fiable de l'infiltrat inflammatoire.

Avec le développement des stratégies thérapeutiques basées sur une chimiothérapie néoadjuvante, l'étude de l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral évalué sur pièces après chimiothérapie pourrait fournir des informations pronostiques et éventuellement prédictives dans les carcinomes séreux de haut grade de l'ovaire.

**Composition du jury:**

**Présidente:** Madame le Professeur COPIN  
**Assesseurs:** Monsieur le Professeur HEBBAR  
Monsieur le Professeur VINATIER  
**Directeur de thèse:** Monsieur le Docteur KERDRAON